

République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de L'enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
Université de Jijel



MB. 28/08

02  
02

Faculté des Sciences  
Département de Biologie Moléculaire et Cellulaire

# Mémoire

De fin des études en vue de l'obtention du diplôme des études  
supérieures (DES)

Option : Microbiologie

Thème

*Les Microorganismes Thermophiles et  
leurs Applications en Biotechnologie*

Membres du jury :

- Président de jury : Dr. Tayeb Idoui
- Encadreur : Dr. Mohamed Sifour

Présenté par :

- Bouamoucha Samira
- Boufersada Messaouda
- Bounamis Fatiha



Promotion 2008



# REMERCIEMENT

*Nous remercions en premier lieu DIEU le tout puissant qui nous a donné la bonne foi et le courage pour accomplir ce modeste travail ainsi que nos parents.*

*L'aboutissement à la réalisation d'un travail est le fruit de toutes les années de formation, c'est donc à tous nos enseignants que voudront d'abord exprimer notre respect et notre gratitude.*

*Nos sincères remerciements d'abord à notre promoteur Dr. M. Sifour qui a suivi l'évolution de ce travail, surtout pour son aide précieuse, nous tenons à lui exprimer notre profonde gratitude et reconnaissance.*

*Nous adressons nos vifs remerciements au jury d'avoir accepter d'évaluer notre travail.*

SAMIRA  
MESSA  
FATIHA

## SOMMAIRE

Introduction.....	1
<b>CHAPITRE I : LES MICROORGANISMES THERMOPHILES</b>	
I-1-Définition .....	2
I-2-Phylogénie des microorganismes thermophiles .....	4
I-3-Sources et habitats des microorganismes thermophiles .....	5
I-3-1 Les biotopes hydrothermales .....	5
I-3-1-1- Les fontaines hydrothermales océaniques.....	5
I-3-1-2 Les sources hydrothermales terrestres.....	5
I-3-2-Les biotopes géothermales.....	6
I-3-3 Autres biotopes.....	6
<b>CHAPITRE II : ADAPTATION DES THERMOPHILES A DES HAUTES TEMPERATURES</b>	
II-1- Les lipides et la membrane.....	8
II-2- Les protéines et les acides aminés.....	10
II-3- Les acides nucléiques.....	11
II-3-1- L'acide désoxyribonucléique « ADN » .....	11
II-3-2- L'acide ribonucléique « ARN ».....	11
<b>CHAPITRE III: APPLICATIONS BIOTECHNOLOGIQUES ET INDUSTRIELLES</b>	
III-1- Les avantages de l'utilisation des thermophiles dans l'industrie.....	13
III-2- Les applications biotechnologiques.....	14
III-2-1- Les enzymes thermostables.....	14
III-2-1-1- Les enzymes amylolytiques.....	14
III-2-1-2- Les ADN polymérase.....	16
III-2-1-3- Les enzymes lipolytiques.....	17
III-2-1-4- Les enzymes protéolytiques .....	19
III-2-1-5- Les enzymes cellulolytiques .....	20
III-2-1-6- Les enzymes xylanolytiques .....	21
III-2-1-7- Les enzymes chitinolytiques .....	23
III-2-1-8- Autres enzymes thermostables .....	24
III-3- Applications industrielles .....	25
III-3-1- Le compostage .....	25

III-3-2- Production des biogaz .....	26
III-3-3- Production d'éthanol .....	27
III-3-4- La biolixiviation .....	27
III-3-5- Autres applications industrielles .....	28
III-3-5-1- Traitement des eaux usées .....	28
III-3-5-2- Extraction du pétrole .....	28
III-3-5-3- Biosenseurs .....	28
III-3-5-4- Biodiesel .....	28
III-4- Les microorganismes thermophiles et les techniques moléculaires.....	29
Conclusion .....	30
Références bibliographiques.....	31

## LISTE DES TABLEAUX

- **Tableau 1:** Températures cardinales de certains microorganismes thermophiles ..... 3
- **Tableau 2:** Certains microorganismes thermophiles : habitat et condition de croissance ..... 7
- **Tableau 3 :** Le pourcentage en G+C (ADN) chez certains microorganismes thermophiles ..... 12
- **Tableau 4 :** Les enzymes amylolytiques thermostables : origines et propriétés ..... 15
- **Tableau 5 :** Les ADN polymérase thermostables : origines et propriétés ..... 16
- **Tableau 6 :** Enzymes lipolytiques : sources et propriétés ..... 18
- **Tableau 7 :** Certains microorganismes thermophiles producteurs des enzymes protéolytiques thermostables ..... 19
- **Tableau 8 :** Les enzymes cellulolytiques, origines et propriétés ..... 20
- **Tableau 9 :** Certains microorganismes thermophiles producteurs de xylanases thermostables ..... 22
- **Tableau 10 :** Chitinases thermostables : origines et propriétés ..... 23
- **Tableau 11 :** Autres enzymes des thermophiles et leurs applications ..... 24
- **Tableau 12 :** Exemples des gènes des thermophiles codants pour des enzymes thermostables clonés dans des hôtes mésophiles ..... 29

## LISTE DES FIGURES

- **Figure 1:** Effet de la température sur les taux de croissance des microorganismes..... 2
- **Figure 2:** L'arbre phylogénétique universel issue d'une analyse comparative de séquences de gènes ribosomiques..... 4
- **Figure 3 :** La membrane et les lipides chez les microorganismes thermophiles. .... 9
- **Figure 4 :** Exemple d'évolution de la température pendant le compostage..... 25

## LISTE DES ABREVIATIONS ET SYMBOLES

- **ADN** : Acide désoxyribonucléique.
- **ARN**: Acide ribonucléique.
- **ARNm** : Acide ribonucléique messenger.
- **ARNr** : Acide ribonucléique ribosomique.
- **ARNt**: Acide ribonucléique de transfert.
- **C**: Cytosine.
- **G**:Glutamine.
- **°C**: Degré celsius.
- **pH**: Potentiel hydrogénique.
- **pH<sub>opt</sub>**: Potentiel hydrogèniqum optimum.
- **PCR**: Polymerase Chain Reaction .
- **T**: Température.
- **T<sub>max</sub>**: Température maximale.
- **T<sub>min</sub>**: Température minimale.
- **T<sub>opt</sub>**: Température optimale.



# *Introduction*



## Introduction

La survie et la croissance des microorganismes vivants sont régies par de nombreux facteurs physicochimiques de l'environnement, chaque organisme étant défini et caractérisé d'après des paramètres spécifiques qui sont nécessaires à son développement (Postec, 2005).

L'extremophilie désigne l'aptitude de certains organismes à se développer dans des conditions physiques et chimiques défavorables pour la plupart des organismes vivants (Lefebvre, 2006). Ainsi les microorganismes extrêmophiles se développent de façon optimale dans les conditions extrêmes de température, de pH, de salinité, de pression hydrostatique ou de radiations ionisantes, ces microorganismes sont alors qualifiés respectivement de : thermophiles, psychrophiles, acidophiles, alcalophiles, halophiles... etc.(Postec,2005).

Parmi les domaines les plus étudiés de l'extremophilie se trouvent la haute température « thermophilie » (Lefebvre, 2006). L'étude de cette dernière est un sujet « très actuel » à la pointe de la technologie et intéresse aussi bien la recherche fondamentale que industrielle qui recherche des microbes capables de dégrader des polluants marins ou des effluents toxiques, de synthétiser des biopolymères utilisables pour l'extraction pétrolière, des métabolites originaux pouvant constituer de nouveaux médicaments, et en fin des enzymes thermostables destinées à nombreux procédés industriels comme les protéases, les cellulases, et les amylases .... (Leduc-Lebaleur, 1991).

L'objet de ce traité est précisément de fournir une introduction équilibrée à la thermophilie, dont la phylogénie, l'habitat, les mécanismes d'adaptation et les applications biotechnologiques et industrielles sont les principaux titres étudiés.

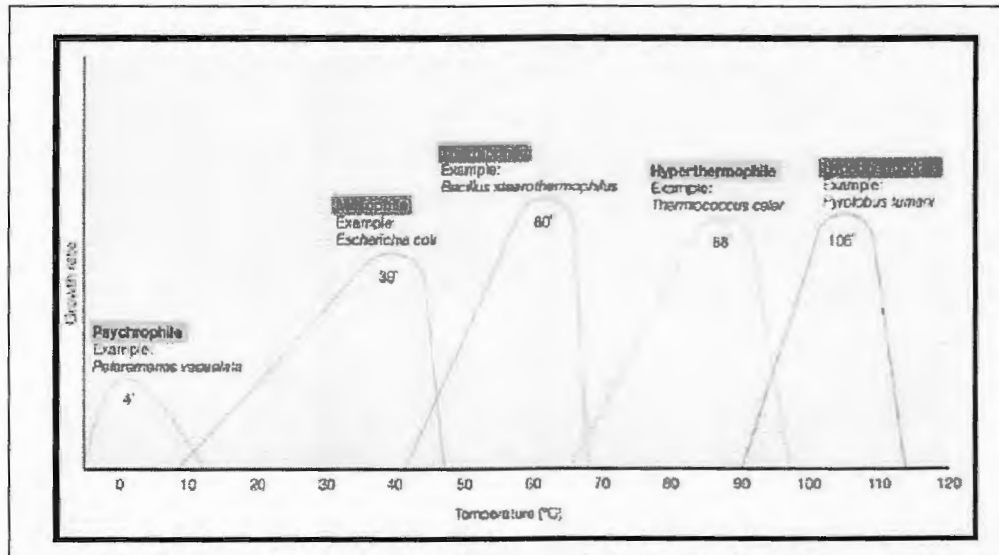


Chapitre I:  
Les Microorganismes  
Thermophiles

## I - Les microorganismes thermophiles

### I-1- Définition

La relation des microorganismes vivants à la température a longtemps été considérée en biologie comme un élément de base de classification. Quatre groupes majeurs sont définis selon la température optimale de croissance : les psychrophiles, qui ont des températures optimales inférieures ou égale à 15°C, les mésophiles qui poussent de façon optimale entre 20 et 45°C, les thermophiles qui poussent de façon optimale entre 55°C et 60°C et en fin les hyperthermophiles qui ont une température optimale de croissance supérieure ou égale à 80°C (Figure 1) (Madigan et al., 2003).



**Figure 1:** Effet de la température sur les taux de croissance de microorganismes types: psychrophile, mésophile, thermophile et deux hyperthermophiles différents. Leurs optima de température respectifs sont indiqués sur le graphique (Madigan et al., 2003)

Les microorganismes thermophiles, du grec thermê = chaleur, philein = aimer, sont des organismes qui peuvent vivre et se multiplier à des températures de 55°C ou plus, leurs minimum est situé autour de 45°C avec des optimums entre 55°C et 65°C (Prescott et al., 2003). La plupart peuvent être considérés comme des thermophiles modérés, d'autres sont considérés comme hyperthermophiles car ils sont capables de croître à des températures très élevées au dessus de 100°C (Perry et al., 2004). Les champignons thermophiles ont une température minimale de croissance de 20°C, une température maximale autour de 61°C et une température optimale entre 45°C et 55°C (Maheshwari et al., 2000).

Brock (1978) a proposé de fixer la limite de thermophilie au dessus de 60 °C en se basant sur deux arguments :

1. Les températures plus élevées sont généralement associées à des activités géothermales et industrielles.
2. Certains invertébrés peuvent survivre à des expositions à des températures proches de 100°C mais ne peuvent croître au delà de 50°C, le monde thermophile serait alors strictement procaryote (Postec, 2005).

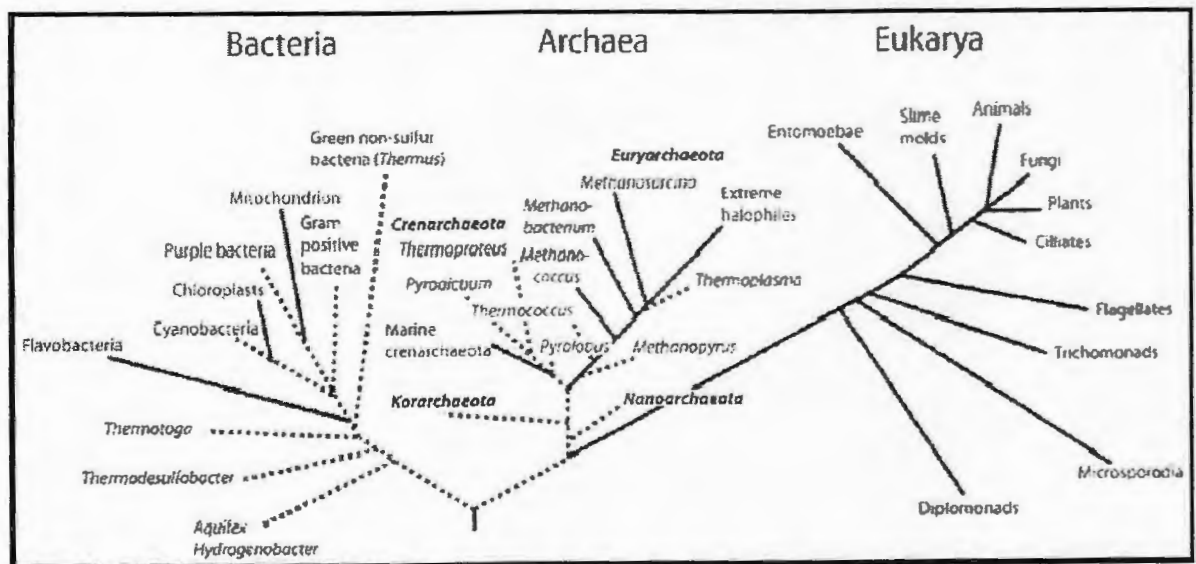
Tableau 1 : Températures cardinales de certains microorganismes thermophiles

Microorganisme	Température (°C)			Référence
	Minimale	Optimale	Maximale	
<b>Bactéries</b>				
<i>Bacillus stearothermophilus</i>	30	60-65	75	(Prescott et al., 2003)
<i>Pyrococcus abyssi</i>	67	96	102	
<i>Pyrodictium occultum</i>	82	105	110	
<i>Pyrolobus fumarii</i>	90	106	113	
<i>Sulfolobus acidocaldarius</i>	60	80	85	
<i>Synecoccus eximius</i>	70	79	84	
<i>Thermoplasma acidophilum</i>	45	59	62	
<i>Thermus aquaticus</i>	40	70-72	79	
<b>Champignons</b>				
<i>Chaetomium thermophilum</i>	—	45-55	58-61	(Maheshwari et al., 2000)
<i>Chrysosporium fergusii</i>	—	50	60	
<i>Penicillium dupontii</i>	—	45-50	60	
<i>Thermoascus aurantiacus</i>	—	49-62	61	

## I-2- Phylogénie des microorganismes thermophiles

Les microorganismes ont été traditionnellement classés selon des caractères tels que la morphologie et la physiologie, ce qui ne permettait pas d'établir des relations d'évolution entre les différents groupes microbiens. L'introduction à la phylogénie basée sur l'analyse des séquences d'acides nucléiques en systématique microbienne a permis une classification des microorganismes en terme d'évolution et une clarification des lignées phylogéniques entre elles et des niveaux taxonomiques (espèces, genres, famille...etc.). De plus les travaux de phylogénie moléculaire sont à l'origine d'une avancée scientifique majeure datant de la fin des années 1970 : la découverte des archées par « Carl Woese » en 1977 (Postec, 2005).

La présence des thermophiles dans les branches les plus profondes de l'arbre du vivant conduit à l'hypothèse selon la quelle la vie aurait émergé d'environnements chauds (Figure 2) (Perry et al., 2004).



**Figure 2 :** Arbre phylogénétique universel issu d'une analyse comparative de séquences de gènes ribosomiques. Ces données soutiennent la discrimination entre les trois domaines, deux d'entre eux contenant des représentants procaryotes (Bacteria et Archaea). L'enracinement représente la position supposée du dernier ancêtre commun universel. Les groupes phylogénétiques contenant des membres thermophiles ou exclusivement thermophiles sont indiqués en lignes pointillées (Postec, 2005)



### **I-3- Sources et habitats des microorganismes thermophiles**

Les écosystèmes naturels des microorganismes thermophiles sont pour les plupart très hostiles, insupportables pour tout autre organisme vivant parfois incompatibles a toute activité biochimique et voire a l'existence même des molécules biologiques, certains milieux sont caractérisés par des températures qui dépassent largement le point d'ébullition d'eau (>110°C), pH très corrosif par son acidité très basse (pH <3) et une pression hydrostatique phénoménale suffisante pour maintenir l'eau a son état liquide nécessaire a toutes formes de vie (Bousseboua, 2005).

Les plus important biotopes thermophiles naturels ; les plus souvent associés a une activité volcanique ; sont les sites géothermiques terrestres comprenant des sources chaudes alcalines et les solfatares ; les environnements hydrothermaux marins côtiers et abyssaux (Postec, 2005). Les microorganismes thermophiles peuvent être isolés aussi des milieux industriels comme les rejets de mines, les tas de compost ....(Vielle et Zeikus, 2001).

#### **I-3-1- Les biotopes hydrothermales**

Les fontaines en forme de cheminée d'où s'échappe un fluide hydrothermale a des températures comprises entre 200°C et 350°C, il est dépourvu de toute matière organique mais contient d'importantes quantités de sulfures métalliques et principalement du sulfure de fer, (Stetter, 1999).

Une microflore bactérienne lithotrophe très diversifiée à été mise en évidence aux points d'émergence de ces fontaines et autour d'elles, dont certains fixent le carbone minérale dissous dans l'eau ( $\text{CO}_2$ ,  $\text{CO}_3^{-2}$ ,  $\text{HCO}_3^-$ ) et le réduisent en matière organique et oxydent parallèlement les composés soufrés apportés par les fluides hydrothermales ( $\text{H}_2\text{S}$  et  $\text{SO}_3^{-2}$ ). D'autres groupes bactériens liés à l'oxydation d'hydrogène, du fer et de manganèse sont présents ainsi que d'autres bactéries nutritives et d'autres méthanotrophes (Bousseboua, 2005).

##### **I-3-1-1- Les fontaines hydrothermales océaniques**

Ce n'est qu'en 1977 que les premières plongées profondes du submersible américain ALVIN ont permis la découverte de sources hydrothermales océaniques aux quelles étaient associées de formidables oasis de vie. Les écosystèmes hydrothermaux marins profonds constituent un milieu idéal pour tenter de découvrir et cultiver de nouveaux microorganismes qui repousseraient à la température maximale de croissance compatible avec la vie (Postec, 2005).

Environ 1/3 du picoplancton océanique était constitué par les archéobactéries, surtout les crénarchéotes : organismes normalement associés à des environnements hostiles (sources chaudes, zones de fumeurs des fonds marins, régions salées et thermoacidophiles) (Prescott et al., 2003).

##### **I-3-1-2- Les sources hydrothermales terrestres**

Les sources chaudes sont distribuées partout dans le monde, elles sont souvent nommées « solfatare » (Prescott et al., 2003). Ces sources sont plus concentrées en Islande, Japon, Italie, Afrique centrale et en Amérique centrale (Madigan et al., 2003).

Un biotope typique qu'affectionne les archéobactéries et certaines eubactéries thermophiles est celui du célèbre parc national de « Yellowstone » la plus vaste zone tempérée volcanique actuellement en activité sur terre. Le parc est également fréquenté par plusieurs espèces d'archéobactéries et de cyanobactéries thermophiles qui se développent dans les bassins volcaniques multicolores aux eaux chaudes et vaporeuses (site web 1).

### I-3-2- Les biotopes géothermales

Des microorganismes thermophiles sont découverts dans les cratères des volcans en activité et plus récemment dans les nappes de pétrole profondes (site web1), en effet des études récentes montrent que des populations de procaryotes actives présentes dans les réserves de pétrole à haute température 60-90°C, incluant des genres comme *Thermotoga*, *Thermoanaerobacter*, *Thermococcus* et même des archéobactéries dominés par les méthanogènes (Prescott et al., 2003; Soltani, 2004).

Certains scientifiques disent que les microorganismes thermophiles et hyperthermophiles pourraient être présents dans les premiers kilomètres de la croûte terrestre, tapis dans les pores emplis de fluides, dans les craquelures et les interstices des roches (site web1).

Les sols hyperthermiques chauffés par géothermie sont peuplés des procaryotes : bactéries et archéobactéries, parmi ceux-ci les aérobies : *Thermomicrobium* et les anaérobies *Thermotoga* (Prescott et al., 2003). Un sol exposé au soleil peut atteindre une température compatible avec la croissance des microorganismes thermophiles modérés, ces derniers soient trouver dans les environnements désertiques (sahara) (Madigan et al., 2003; Perry et al., 2004).

Les thermophiles peuvent aussi habiter les rejets des mines de charbon qui sont chauds et acides idéaux pour le développement de *Thermoplasma* puisque sa croissance est optimale entre 55°C et 59°C et un pH de 1 à 2 (Prescott et al., 2003).

### I-3-3- Autres biotopes

Les thermophiles sont présentes en quantité significative dans les effluents industriels chauds, les chauffe-eau, l'eau de tours de réfrigération des centrales nucléaires et dans d'autres environnements artificiels (Perry et al., 2004)

Les tas de compost qui atteints des températures élevées ce qui assurent la participation active des thermophiles dans la dégradation de la matière organique .un exemple de ces thermophiles : le mycète *Thermomonospora* qui a été isolé a partir de compost et de foin (Prescott et al., 2003).

Tableau 2 : Certains microorganismes thermophiles : habitat et condition de croissance

Microorganisme	Habitat	Condition de Croissance	Référence
<b>Bactéries</b>			
<i>Anoxybacillus gonensis</i>	Source chaude (Gönen-Turquie)	T <sub>opt</sub> :60°C	(Çolak et al., 2005)
<i>Bacillus stearothermophilus</i> CH-4	Compost	T <sub>opt</sub> :40-65°C	(Haki et Rakshit, 2003)
<i>Bacillus</i> sp. souche 13.26	Source chaude (Tompasso-Indonésie)	T <sub>opt</sub> :55°C	(Eyuli et al., 2004)
<i>Geobacillus thermoleovorans</i>	Source chaude (Nouvelle Zelande)	T <sub>opt</sub> :70°C pH <sub>opt</sub> :7,0	(Uma Maheswar Rao et Satyanarayana, 2003)
<i>Geobacillus thermoleovorans</i>	Sol désertique	T <sub>opt</sub> :70°C pH <sub>opt</sub> :8,0	(Abdel -Fattah, 2002)
<i>Thermus</i> sp.	Sédiments de source chaude (Taiwan)	T <sub>opt</sub> :65°C pH <sub>opt</sub> : 7,0	(Shaw et al., 1995)
<i>Thermus aquaticus</i> YT-1	Source chaude	T <sub>opt</sub> :70-75°C pH <sub>opt</sub> ≥7,0	(Dominguez et al., 2004)
<i>Thermotoga maritima</i>	Fontaine hydrothermale (Atlantique)	T <sub>opt</sub> :80°C pH <sub>opt</sub> :6,5	(Postec, 2005)
<b>Archéobactéries</b>			
<i>Pyrodictium occultum</i>	Solfatare marin	T <sub>opt</sub> : 105°C pH <sub>opt</sub> : 5,5	
<i>Sulfolobus shibatae</i>	Sources géothermales acides (Iceland)	T <sub>opt</sub> : 81°C pH <sub>opt</sub> : 3,0	(Vielle et Zeikus, 2001)
<i>Thennosphaera aggregans</i>	Source chaude (Yellowstone)	T <sub>opt</sub> : 85°C pH <sub>opt</sub> : 6,8	
<b>Mycètes</b>			
<i>Thermomonospora</i>	Compost et foin	—	(Prescott et al., 2003)





Chapitre II:  
Adaptation des microorganismes  
thermophiles à des hautes  
températures

## II- Adaptation des thermophiles à des hautes températures

L'étude de la vie à haute température est relativement récente, et malgré l'ensemble des connaissances acquises depuis une vingtaine d'années les mécanismes moléculaires d'adaptation à la thermophilie restent à ce jour peu connus (Postec, 2005).

Les microorganismes thermophiles se trouvent dans diverses branches de l'arbre phylogénique, cela signifie que les mécanismes d'adaptation à des températures élevées ont pu se produire à plusieurs manières et de façon indépendante au cours de l'évolution (Fujita et Kanehisa, 2005).

Cette adaptation se marque dans la composition de leurs structures cellulaires, ceci implique que non seulement les protéines soient stables à des températures supérieures à 80°C, mais aussi les lipides, les acides nucléiques et les métabolites de faible poids moléculaire (Singleton, 1994; Postec, 2005).

### II-1- Les lipides et la membrane

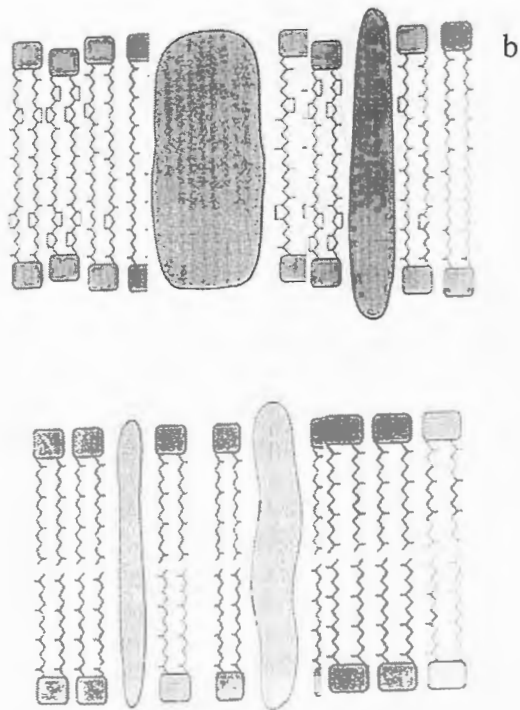
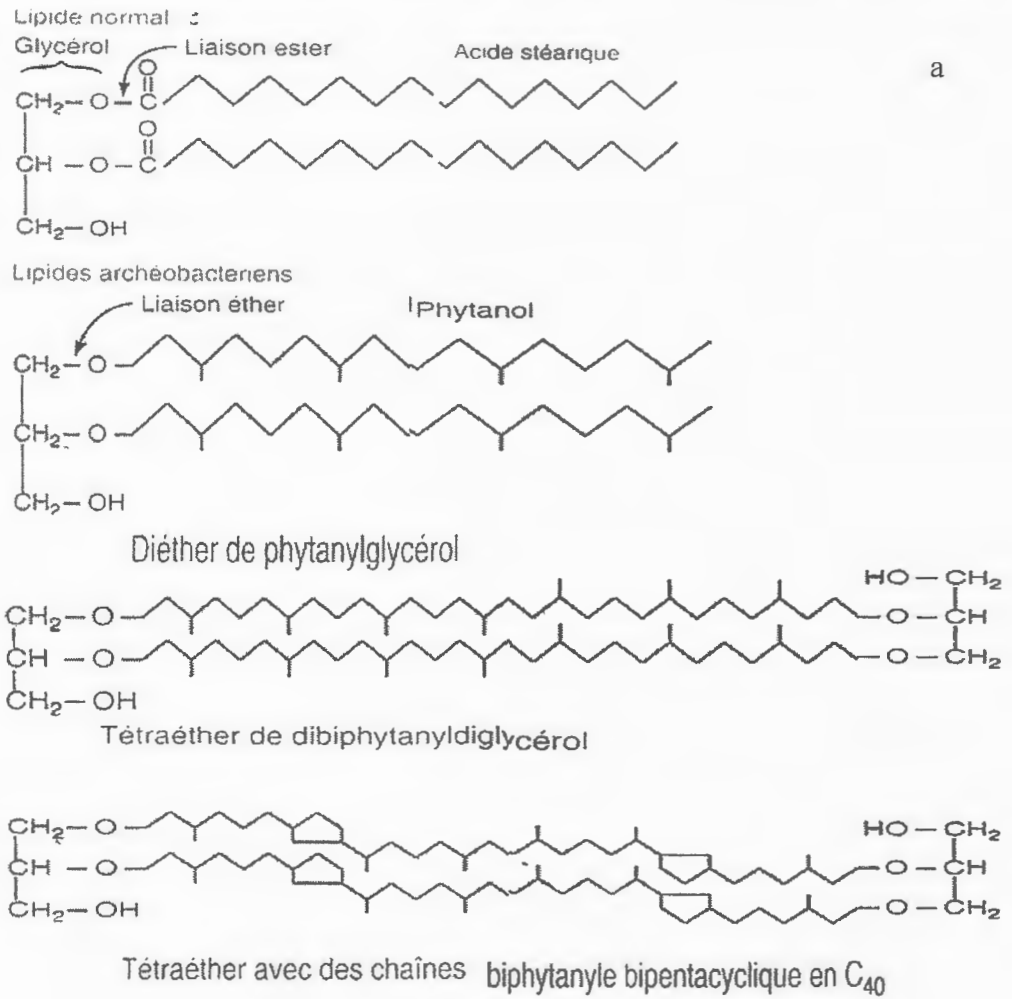
La température de croissance peut influencer la composition en acides gras des membranes des cellules bactériennes, ceci est démontré par la comparaison de la composition en acides gras des membranes cytoplasmiques d'un organisme cultivé à température minimale avec celle du même organisme cultivé à température maximale (Perry et al., 2004).

Contrairement aux psychrophiles qui ont une membrane riche en acides gras insaturés, la membrane cellulaire des thermophiles est formée d'acides gras saturés qui fournissent à la cellule un environnement hydrophobe et une rigidité lors de leur exposition aux températures élevées (Maheshwari et al., 2000; Haki et Rakshit, 2003; Madigan et al., 2003).

L'étude de la composition des lipides membranaires indique des différences d'adaptation à la thermophilie entre les archées et les bactéries (Postec, 2005). Les lipides membranaires des archées comportent des chaînes hydrocarbonées ramifiées fixées au glycérol par des liaisons éther plutôt que des acides gras connectés par des liaisons ester (Figure 3-a) (Stetter, 1999; Haki et Rakshit, 2003; Prescott et al., 2003; Postec, 2005). Les liaisons éther sont plus résistantes que les liaisons ester aux effets de la température, à l'oxydation et à la dégradation enzymatique (Postec, 2005).

De plus, les membranes des archées peuvent contenir un mélange de diethers de phytanyl-glycérol formant une bicouche lipidique, et de tétraethers de dibiphytanyl-diglycérol créant une structure membranaire en monocouche lipidique. Cette structure, largement répandue chez les archées hyperthermophiles, est beaucoup plus rigide que les bicouches lipidiques des bactéries et des eucaryotes (Figure 3-b) (Madigan et al., 2003).

Les stratégies de conservation de la structure membranaire à température élevée impliquent chez les bactéries une augmentation de degré de saturation et de longueur de chaînes d'acide gras, et chez les archées une cyclisation de chaînes d'acide gras et une transition de lipides à liaison diéther en lipides à liaison tétraéther, ce qui contribue à une meilleure adaptation aux températures élevées par réduction de la fluidité membranaire (Postec, 2005).



**Figure 3 :** La membrane et les lipides chez les thermophiles. (a) Illustration des différences entre les lipides archéobactériens et bactériens, (b) Exemple des membranes archéobactériennes (Prescott et al., 2003).

## II-2- Les protéines et les acides aminés

Les protéines sont les principaux constituants cellulaires qui déterminent la capacité d'un microorganisme à pousser à haute température (Perry et al., 2004). Il semble qu'il n'existe pas de mécanisme universel expliquant la thermostabilité de protéines chez les microorganismes thermophiles, mais plutôt plusieurs facteurs intervenants à différents niveaux selon le microorganisme considéré (Postec, 2005).

Les thermophiles possèdent dans leurs protéines équivalents de petites séquences d'acides aminés différentes et spécifiquement localisées qui expliquerait leur stabilité thermique (Bousseboua, 2005). A des températures de l'ordre de 100°C, des acides aminés thermolabiles chargés tel que la cystéine, la glutamine, la thréonine et la lysine sont dénaturés à cause de ça les séquences des protéines des thermophiles préfèrent, l'histidine, l'aspartate, le glutamate l'arginine, la tyrosine et l'alanine (Mc Donald et al., 1999; Mc Donald, 2001; Vielle et Zeikus, 2001; Kumar et Nussinov, 2001).

Les enzymes issues de microorganismes thermophiles ou hyperthermophiles sont stables et actives à des températures largement supérieures à la température maximale de croissance de l'organisme d'origine (Connaris et al., 1991).

Le repliement des protéines semble être un facteur essentiel de thermostabilité. Ce repliement est assuré par des protéines spécifiques appelées «chapérons moléculaires» qui ne reconnaissent que les polypeptides dépliés ou partiellement dénaturés et ne se fixent pas aux protéines normales fonctionnelles (Prescott et al., 2003). Les chapérons ont été découverts parce que leur concentration augmente fortement lorsque les cellules sont exposées à des hautes températures, à des poisons métaboliques ou d'autres conditions de stress, c'est pourquoi beaucoup de chapérons sont souvent appelés « protéines de choc thermique »; Ils protègent donc la cellule des atteintes thermiques (Haki et Rakshit, 2003). Il y a de grande quantité de chapérons chez les hyperthermophiles comme : *Methanopyrus kanabri*, *Pyrodictium occultum* et *Pyrolobus fumarii* qui possèdent un chapéron appelé «thermosome» (Stetter, 1999 ;Prescott et al.,2003).

Une accumulation très inhabituelle de solutés compatibles tels que le di-inositol-phosphate, diglycérol phosphate ou le monosylglycérate a été mise en évidence chez des bactéries et des archées thermophiles et hyperthermophiles (*Thermotoga maritima*, *Pyrococcus woesei*) et n'ont jamais été identifiés chez les microorganismes mésophiles, ces composés pouvaient jouer un rôle de thermoprotecteurs sur des protéines cytoplasmiques (Madigan et al., 2003).

Certaines propriétés communes aux protéines thermostables ont été observées:

- Une augmentation de l'hydrophobicité du centre de la protéine ce qui diminue le risque de dépliement et la surface d'exposition aux solvants (Veille et Zeikus, 2001).
- La stabilisation des protéines est également renforcée par la présence des liaisons hydrogènes entre les résidus polaires, des liaisons ioniques, des ponts disulfures et des interactions électrostatiques qui déterminent une conformation spatiale nettement plus compacte (Kumar et Nussinov. 2001; Bousseboua, 2005).

- Une resynthèse rapide des composés thermosensibles à faible poids moléculaire NAD, ATP...etc (Stetter, 1999).

C'est finalement le repliement des protéines qui conditionne la résistance aux températures élevées. Ainsi des changements mineurs dans la séquence primaire d'acides aminés sont apparemment suffisants pour qu'une protéine thermolabile devienne thermostable. L'adaptation des protéines aux températures élevées semble être le résultat d'un compromis entre la rigidité permettant la thermostabilité et la flexibilité nécessaire à la fonction physiologique (Postec, 2005).

### **II-3- Les acides nucléiques**

Les microorganismes thermophiles posent de nombreuses et importantes questions car à leur température de croissance, la plupart des biomolécules, en particulier les acides nucléiques, sont dénaturés et perdent leurs fonctions. Leurs mécanismes de thermostabilité sont très mal connus. (Bousseboua, 2005)

#### **II-3-1- L'acide désoxyribonucléique «ADN »**

Les archées hyperthermophiles possèdent une gyrase inversée «ADN topoisomerase type I » qui introduit des supertours positifs dans l'ADN ce qui contribue à stabiliser la double hélice d'ADN et à la préserver de la dénaturation thermique. Les gyrases inverses ont été défectées uniquement chez les microorganismes qui ont une température optimale de croissance de plus de 65°C, et sont présentes sans exception chez les archées et les bactéries thermophiles (Postec, 2005). Les super-enroulements peuvent également augmenter le point de fusion d'ADN à une température juste inférieure aux températures maximales de croissance (Haki et Rakshit, 2003).

Des protéines sont connues pour participer au maintien à forte température de la structure double brin d'ADN, certains peuvent être homologues aux histones des eucaryotes, compactent l'ADN en des structures qui rappellent les nucléosomes (Perry et al., 2004; Postec, 2005).

La thermostabilité d'ADN serait en particulier assurée par l'accumulation intracellulaire des anions, des sels, des polyamines et des composés thermoprotecteurs (2-3 diphosphoglycerate de potassium) mais ce mécanisme n'est pas générale, (Bousseboua, 2005).

Les microorganismes thermophiles et hyperthermophiles sont présumés avoir des mécanismes de réparation de l'ADN particulièrement efficaces, les détails de ces mécanismes sont jusqu'à présent inconnus (Postec, 2005).

L'ADN des thermophiles présente aussi une grande variation dans le contenu en GC ce qui explique sa thermostabilité (Mc Donald et al., 1999; Mc Donald, 2001).

**Tableau 3:** Le pourcentage en G+C (ADN) chez certains microorganismes thermophiles.

Microorganisme thermophile	(ADN) G+C (mol %)	Référence
<i>Aeropyrum pernix</i>	67	(Stetter, 1999)
<i>Pyrococcus occultum</i>	62	
<i>Thermodesulfobivrio</i>	30-38	(Perry et al., 2004)
<i>Thermoproteus tenax</i>	56	(Stetter, 1999)
<i>Thermosipho</i>	60-63	(Perry et al., 2004)
<i>Thermotoga maritima</i>	46	(Stetter, 1999)
<i>Thermus</i>	60-67	(Perry et al., 2004)

### II-3-2- L'acide ribonucléique « ARN »

Les adaptations thermiques de l'ARN sont également connues. L'ARNm des thermophiles contient un pourcentage de nucléotides puriques très élevé, une explication probable de ce phénomène qu'il s'agit d'empêcher l'agrégation d'ARNm (Fujita et Kanehisa, 2005).

Les mécanismes de thermoadaptation des hyperthermophiles incluent également des modifications nucléidiques des ARN de transfert «ARNt» qui ont des structures secondaires stabilisées et des températures de fusion plus élevées. Un contenu en base G+C des ARN de transfert et des ARN ribosomiques «ARNr» pourrait stabiliser les conformations actives. Concernant l'ARN simple brin, certaines liaisons induisant sa structure secondaire sont renforcées par des modifications post transcriptionnelles (Setter, 1999; Postec, 2005).



Chapitre III :  
*Applications biotechnologiques  
et industrielles*

### III- Applications biotechnologiques et industrielles

#### III-1- Les avantages de l'utilisation des thermophiles dans l'industrie

Outre l'aspect fondamental présenté par les nouvelles souches thermophiles et hyperthermophiles, ces microorganismes susceptibles de contenir des molécules d'intérêt biotechnologique pour les procédés qui se déroulent à haute température (Postec, 2005).

L'utilisation des thermophiles en biotechnologie présente plusieurs avantages :

- Les risques de contamination par les mésophiles sont limités dans le cas des cultures continues à des températures supérieures à 60°C (Vielle et Zeikus, 2001; Haki et Rakshit, 2003).
- Une température élevée augmente la biodisponibilité et la solubilité des composés organiques ce qui entraîne une augmentation du taux de production, ainsi qu'une ionisation de certains substrats ou produits (Scriban, 1999).
- La réduction de la viscosité de certains milieux de culture ce qui implique une augmentation de la diffusion des molécules et donc la vitesse des réactions enzymatiques, ce qui favorise le déplacement de l'équilibre (Lin et al., 1998; Scriban, 1999; Abdel-fattah, 2002; Haki et Rakshit, 2003).
- L'utilisation des thermophiles est aussi avantageuse grâce à la réduction des coûts de refroidissement après stérilisation du milieu et elle permet en particulier la transformation stéréochimique sélective des composés insolubles à basse température (Scriban, 1999).
- La facilité de leur isolement et de leur culture, la variété d'habitat, la réduction des risques de contamination, les besoins nutritionnels simples, la rapidité de croissance et la formation du mycélium homogène sont des facteurs désirables qui permettent une application à grande échelle des mycètes thermophiles (Maheshwari et al., 2000).

Les enzymes des thermophiles et des hyperthermophiles peuvent avoir des applications commerciales importantes car :

- Elles ont une activité capitale à température élevée compatible aux procédés industriels qui se déroulent entre 50°C et 100°C.
- Elles sont facilement purifiées après un traitement thermique.
- Elles sont moins coûteuses que les autres car en faut moins pour obtenir la même activité.
- Elles sont très stables à température ambiante ce qui augmente leur durée de vie en stockage des supermarchés (Perry et al., 2004).
- Elles sont résistantes aux produits chimiques dénaturants (surfactants, chélateurs de métaux) (Connaris et al., 1991).
- Certaines peuvent être aussi utilisées comme des modèles pour la compréhension de la thermostabilité et de la thermoactivité (Vielle et Zeikus, 2001; Haki et Rakshit, 2003).



## III-2- Les applications biotechnologiques

### III-2-1- Les enzymes thermostables

Les microorganismes thermophiles présentent des potentialités biotechnologiques intéressantes pour leurs enzymes thermostables (Leduc-Leballeur, 1991). Les enzymes thermostables et hyperthermostables «thermozymes» font partie d'une catégorie d'enzymes appelées «Extremozymes» (Vielle et Zeikus, 2001). Puisque la plupart des processus industriels s'opèrent à des températures élevées, les thermozymes deviennent les plus utilisées comme biocatalyseurs des processus biotechnologiques qu'ils soient scientifiques ou industriels (Madigan et al., 2003).

#### III-2-1-1- Les enzymes amylolytiques

Les procédés d'hydrolyse chimique de l'amidon sont efficacement remplacés par les amylases microbiennes (Jensen et Olsen, 1992). Il existe plusieurs types d'enzymes amylolytiques:  $\alpha$  amylase,  $\beta$  amylase, glucoamylase et pullulanase..., classées en fonction de la nature des liaisons osidiques hydrolysées (Bousseboua, 2005). En fonction de mode de clivage, on les classées en endoamylases, exoamylases et les enzymes débranchantes (Haki et Rakshit, 2003).

Les amylases microbiennes les plus intéressantes du point de vue biotechnologique sont produites par des bactéries ainsi que par des mycètes thermophiles, la production se fait au cours de la phase stationnaire (Tableau 4) (Uma Maheswar Rao et Stayanarayana, 2003).

Les enzymes amylolytiques sont largement appliquées dans plusieurs processus industriels comprenant la fabrication des sucres, la liquéfaction d'amidon pour produire l'alcool, les textiles et l'industrie de papier... (Mamo et al., 1999; Jensen et Olsen, 1992), dans tous ces processus, la bioconversion de l'amidon s'effectue à haute température faisant intervenir des amylases thermostables (Mamo et al., 1999). Elle passe par trois étapes : Une gélatinisation qui conduit à la production d'une suspension visqueuse, une liquéfaction caractérisée par une hydrolyse partielle et une perte de viscosité, et en fin une saccharification qui aboutit à la formation des sirops de glucose, de maltose et d'oligosaccharides (Vielle et Zeikus, 2001; Haki et Rakshit, 2003).

Les  $\alpha$  amylases qui font partie des améliorants de panification ont pour rôle de standardiser la farine et améliorer le procédé de panification. En effet leur ajout accélère le processus de fermentation, diminue la viscosité de la pâte et réduit le taux de pétrissage, par ailleurs d'autres amylases sont utilisées tant qu'agents antirassissants, leur rôle consiste à prévenir la rétrogradation de l'amidon et à préserver la fraîcheur du pain lors du stockage (Bejar, 2006).

Tableau 4: Les enzymes amylolytiques thermostables: origines et propriétés

Enzyme	Origine	Propriétés	Référence
α amylase	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	T <sub>opt</sub> : 70-90°C pH <sub>opt</sub> : 5.5-7.0	(Sicard et al., 1982)
	<i>Bacillus</i> sp. TS. 23	T <sub>opt</sub> : 70°C pH <sub>opt</sub> : 9.0	(Lin et al., 1998)
	<i>Bacillus thermoleovorans</i> NP54	T <sub>opt</sub> : 100°C pH <sub>opt</sub> : 8.0	(Malhotra et al., 2001)
	<i>Pyrococcus woesei</i>	T <sub>opt</sub> : 100°C pH <sub>opt</sub> : 5.0	(Koch et al., 1990)
	<i>Thermococcus hydrothermalis</i>	T <sub>opt</sub> : 85°C pH <sub>opt</sub> : 4.8-7.8	(Levêque et al., 2000)
β amylase	<i>Thermomyces lanuginosus</i>	T <sub>opt</sub> : 60°C pH <sub>opt</sub> : 4.6-5.2	(Jensen et Olsen, 1992)
	<i>Clostridium thermosulphurogenes</i>	T <sub>opt</sub> : 75°C pH <sub>opt</sub> : 5.5	(Haki et Rakshit, 2003)
Pullulanase	<i>Thermoanaerobacterium thermosulphurogenes</i>	T <sub>opt</sub> : 75°C pH <sub>opt</sub> : 5.5-6.0	(Vielle et Zeikus, 2001)
	<i>Fervidobacterium pennavorans</i>	T <sub>opt</sub> : 80-85°C pH <sub>opt</sub> : 6.0	(Vielle et Zeikus, 2001)
Glucoamylase	<i>Pyrococcus furiosus</i>	T <sub>opt</sub> : 110°C	(Illanes, 1999)
	<i>Thermoanaerobacterium thermosaccharolyticum</i>	T <sub>opt</sub> : 50-60°C pH <sub>opt</sub> : 4.0-5.5	(Vielle et Zeikus, 2001)

Le secteur de détergents reste le grand utilisateur d'enzymes. Aujourd'hui, 90% de poudres lissivielles en Europe contiennent des enzymes parmi elles les amylases alcalines qui sont stables et compatibles avec les conditions hostiles lors de processus de lavage. A ce niveau, ces enzymes sont utilisées pour améliorer l'élimination des particules de poussières et de terre qui restent présentes dans les tissus à cause de la trame des polymères de l'amidon (Shaw et al., 1995; Bejar, 2006).

La concentration des sirops de canne à sucre peut se trouver perturbées par la présence de petites quantités de contaminants amylicés qui ont pour effet d'augmenter considérablement leur viscosité et de nuire ensuite au processus de cristallisation. Cet inconvénient peut être éliminé en introduisant une petite quantité d'α amylase bactérienne dans le corps de l'évaporateur à multiple effet dont la température est égale ou supérieure à 80°C (Sicard, 1982).

Ce n'est qu'en 1995, que Shaw a permis le développement d'une nouvelle méthode enzymatique qui permet l'utilisation des α amylases en combinaison avec les β amylases et les enzymes débranchantes (isoamylase et pullulanase) pour assurer la production des sirops de maltose et la farine de riz (Shaw et al., 1995).

### III-2-1-2- Les ADN polymérases

Les ADN polymérases utilisées en biologie moléculaire sont des enzymes utilisées dans la cellule pour la polymérisation des nucléotides de 5' vers 3' et prennent comme matrice un fragment d'ADN donné (Etienne, 1995). Plusieurs ADN polymérases thermostables pourraient être utilisées pour diminuer le temps de réaction de polymérisation en chaîne « PCR » avec des fidélités différentes (Roger, 2002).

La première ADN polymérase thermostable caractérisée «Taq polymérase» extraite d'une bactérie thermophile «*Thermus aquaticus* » isolée par Brock (1969) à partir de la source chaude (70- 75°C) du Parc National du Yellowstone. Elle est pourvue des activités 5'-3' polymérase et 5'-3' exonucléase tandis que l'activité 3'-5' exonucléase n'est pas encore détectée. Cette enzyme a une aptitude rapide de synthèse mais avec un taux d'erreur élevé (Vielle et Ziekus, 2001).

Des techniques d'amplification d'ADN «PCR» utilisent une enzyme -l'ADN polymérase- capable de répliquer rapidement *in vitro* un fragment d'ADN quelconque pourvue qu'elles soient fixées des amorces. Chaque cycle PCR s'effectue en trois phases: La première consiste à la dénaturation par la chaleur (90-95°C) des deux brins d'ADN du fragment à amplifier afin d'obtenir des molécules d'ADN monocaténares. La température de la solution contenant les monocaténares d'ADN est ensuite abaissée de façon que les amorces puissent s'associer aux brins séparés, cette température est d'environ 55°C. La troisième phase est celle de la polymérisation proprement dite, la température est à nouveau augmentée (75°C) et l'ADN polymérase utilisée- qui reste active même à de hautes températures- duplique les brins (Primrose et al. ,2004).

Le fait que le développement de cette technique est réalisé à des températures élevées explique que les ADN polymérases des microorganismes thermophiles sont les plus utilisées actuellement (Haki et Rakshit, 2003).

Cette technique a littéralement révolutionné les recherches en biologie moléculaire et trouve de nombreuses applications dans : le clonage d'ADN, Southern, séquençage d'ADN et en technologie d'ADN recombinant (Site web 2).

**Tableau 5 :** les ADN polymérases thermostables : origines et propriétés

Enzyme	Origine	Propriété	Référence
BstI pol	<i>Bacillus stearothermophilus</i>	-	(Haki et Rakshit, 2003)
C therm ADN pol	<i>Carboxydotherrnus hydrogenoforans</i>	T <sub>opt</sub> : 70°C	(Vielle et Zeikus, 2001)
Pfu pol	<i>Pyrococcus furiosus</i>	T <sub>opt</sub> : 75°C	(Etienne, 1995)
Pwo pol	<i>P. woesei</i>	-	(Etienne, 1995)
Tma pol	<i>Thermotoga maritima</i>	-	(Haki et Rakshit, 2003)
Taq pol I	<i>Thermus aquaticus</i>	T <sub>opt</sub> : 75°C	(Haki et Rakshit, 2003)
Vent ADN pol	<i>Thermus olitoralis</i>	T <sub>opt</sub> : 75°C	(Vielle et Zeikus, 2001)

La PCR est également employée pour l'étude de l'expression d'allèles mutants d'un gène dont la séquence sauvage est connue afin d'identifier une mutation (Hartl et Jones, 2003). En microbiologie clinique elle est applicable dans le diagnostic des maladies infectieuses et les études épidémiologiques pour remplacer les méthodes traditionnelles (sérologie, culture) (Site web 2).

La technique influence également la médecine légale : on commence à l'utiliser dans les affaires criminelles où elle intervient dans la technologie des empreintes d'ADN. Il est possible d'exclure ou d'incriminer des suspects en utilisant des échantillons réduits de matériel biologique découvert sur le lieu du crime (Prescott et al., 2003).

### III-2 -1-3- Les enzymes lipolytiques

Les lipases «triacylglycerol hydrolase» sont l'une des enzymes hydrolytiques les plus importantes qui catalysent l'hydrolyse des liaisons ester des triacylglycerols même à l'interface entre l'eau et le substrat insoluble (Cho et al., 2000; Sharma et al., 2001).

Elles sont produites par tous les systèmes biologiques animaux, plantes et essentiellement par les microorganismes (Sharma et al., 2001; Kumar et al., 2004). Les microorganismes thermophiles et hyperthermophiles représentent une source idéale des lipases thermostables industriellement intéressantes (Tableau 6) (Ewis et al., 2004).

Les estérases constituent la classe des enzymes lipolytiques la plus importante en biotechnologie par la suite de leur capacité de catalyser les réactions stéréospécifiques (Desmarteaux et al., 2006). L'estérase préfère d'hydrolyser les lipides à chaînes courtes uniquement solubles dans l'eau (Cho et al., 2000; Ewis et al., 2004).

La majorité des processus industriels dans les quels les lipases sont employées s'effectuent à des températures supérieures à 45°C (Haki et Rakshit, 2003). Les lipides restent solides à des températures ambiantes, ils nécessitent donc une liquéfaction à une température supérieure à 50°C pour faciliter leur manipulation et les lipases utilisées -qui restent intactes à ces températures -assurent la bioconversion de la matière première (Cho et al., 2000).

Les enzymes lipolytiques sont utilisées en alimentation comme des agents aidant la digestion, et comme additifs alimentaires saveureux (Cho et al., 2000; Haki et Rakshit, 2003). La lipase produite par le champignon thermophile «*Rhizomucor meiheii*» est utilisée dans la fabrication de «beurre de cacao» (Maheshwari et al., 2000).

L'estérase est aussi impliquée dans la préparation des intermédiaires ou éléments constitutifs tels que la synthèse des substances pharmaceutiques intéressantes comme «la levofloxacin» un antibiotique de type fluoroquinolone (Desmarteaux et al., 2006).

Tableau 6: Enzymes lipolytiques: sources et propriétés

Enzyme	Origine	Propriétés	Référence
Lipase	<i>Bacillus coagulans</i> BTS-3	T <sub>opt</sub> : 55°C pH <sub>opt</sub> : 8.5	(Kumar et al., 2005)
	<i>Bacillus</i> sp. RSJ- 1	T <sub>opt</sub> : 50°C pH <sub>opt</sub> : 8.0-9.0	(Sharma et al., 2002)
	<i>Bacillus</i> sp .TP 1071	T <sub>opt</sub> : 60°C pH <sub>opt</sub> : 8.0	(Sunna et al., 2002)
	<i>B. stearothermophilus</i> MC7	T <sub>opt</sub> : 70-80°C	(Kambourova et al., 2003)
	<i>B. stearothermophilus</i> P1	T <sub>opt</sub> : 55°C pH <sub>opt</sub> :8.5	(Sinhaikul et al., 2001)
	<i>B. thermoleovorans</i> ID-1	T <sub>opt</sub> : 75°C pH <sub>opt</sub> : 7.0-8.0	(Cho et al., 2000)
	<i>Geobacillus thermoleovorans</i>	T <sub>opt</sub> : 70°C pH <sub>opt</sub> : 9.0	(Abdel -fattah, 2002)
	<i>Humicola lanuginosa</i> Y-38	T <sub>opt</sub> : 60°C pH <sub>opt</sub> : 8.0	(Maheshwari et al., 2000)
	<i>Thermus</i> sp.	T <sub>opt</sub> : 80°C	(Dominguez et al., 2004)
Estérase	<i>Anoxybacillus gonensis</i> G2	T <sub>opt</sub> : 60°C pH <sub>opt</sub> : 7.5	(Çolak et al., 2005)
	<i>Geobacillus stearothermophilus</i>	T <sub>opt</sub> : 30-60°C pH <sub>opt</sub> :8.0-9.0	(Ewis et al., 2004)

« *Humicola lanuginosa* » produit des lipases thermostables impliquées dans l'industrie de détergents pour catalyser l'hydrolyse des triglycérides présents dans les taches de graisse ce qui les rend hydrophiles et permet une élimination facile au cours de lavage (Maheshwari et al., 2000; CAR/PP, 2003)

Les lipases alcalines thermostables de *Bacillus coagulans* BT8-3 sont utilisées à cause de leur potentiel d'estérification et de transestérification en solvant organique pour synthétiser des esters d'intérêt industriel, elles sont également appliquées dans le traitement des effluents industriels riches en lipides (Kumar et al., 2005).

Certains processus enzymatiques de raffinage des huiles de graines s'effectuent à pH 5.0 et à de températures d'environ 65-75°C en ajoutant une lipase thermostable (Haki et Rakshit, 2003).

## III-2- 1-4-Les enzymes protéolytiques

Les protéases qui sont généralement classées en deux catégories : « exopeptidases » et « endopeptidases » sont les enzymes industrielles les plus utilisées, elles constituent plus de 65% du marché mondial (Guangrong et al., 2008). Leur action principale est d'hydrolyser et de raccourcir les chaînes protéiques et de permettre leur réaligement au sein de films protéiques (Sicard, 1982).

Parmi ces protéases microbiennes, la kératinase qui fait partie à la famille des protéases à serine et qui doit avoir une importance biotechnologique primordiale puisque elle hydrolyse la substance polypeptidique la plus rigide « Kératine » qui est insoluble dans l'eau, les bases et les acides faibles et même dans les solvants inorganiques, ce polypeptide s'accumule dans les poils, les plumes, les cheveux, les angles...etc. (Friedrich et Antranikian, 1996; Gupta et Ramnani, 2005).

Les keratinases sont largement produites dans des milieux basiques qui contiennent la kératine comme seule source de carbone et d'azote par plusieurs microorganismes notamment les thermophiles (Tableau 7) (Tsirounnikov et al., 2004).

**Tableau 7:** Certains microorganismes thermophiles producteurs des enzymes protéolytiques thermostables

Microorganisme	Enzyme	Propriété	Référence
<i>Bacillus</i> sp. B18'	Protéase alcaline	T <sub>opt</sub> : 85°C pH <sub>opt</sub> : 12,0-13,0	(Fujiwara et al., 1993)
<i>Bacillus</i> sp. Mo-1	Protéase collagenolytique	-	(Okomato et al., 2001)
<i>B. stearothermophilus</i>	-	T <sub>opt</sub> : 60°C	(Haki et Rakshit, 2003)
<i>Fervidobacterium permavorans</i>	Kératinase	T <sub>opt</sub> : 80°C pH <sub>opt</sub> : 10.0	(Friedirich et Antranikian, 1996)
<i>Humicola lanuginosa</i>	Protéase alcaline	-	(Maheshwari et al., 2000)
<i>Penicillium dupontii</i>	Protéase acide	pH <sub>opt</sub> : 2.5-3.5	(Maheshwari et al., 2000)
<i>Pyrococcus furiosus</i>	Pyrolysine	T <sub>opt</sub> : 115°C pH <sub>opt</sub> : 6.0-10.0	(Eggen et al., 1990)
<i>Pyrococcus furiosus</i>	Protéase S	T <sub>opt</sub> : 85°C	(Vielle et Zeikus, 2001)
<i>Staphylothermus marinus</i>	-	pH <sub>opt</sub> : 9,0	(Haki et Rakshit, 2003)
<i>Thermoanaerobacter keratinophilus</i>	Kératinase	T <sub>opt</sub> : 60-85°C pH <sub>opt</sub> : 7.0-8.0	(Gupta et Ramnani, 2005)
<i>Thermotoga maritima</i>	-	T <sub>opt</sub> : 95°C pH <sub>opt</sub> : 9.5	(Haki et Rakshit, 2003)
<i>Thermus aquaticus</i> Tok 3	Caldolase	T <sub>opt</sub> : 95°C	(Eggen et al., 1990)

Plusieurs protéases thermostables sont actuellement appliquées en biologie moléculaire et en biochimie: La protéase de *Thermus* Rt 41 est utilisée dans les procédés de purification d'ADN et d'ARN, et comme un auxiliaire en PCR. La protéase S thermostable a un rôle essentiel dans la fragmentation de protéine avant son séquençage (Vielle et Zeikus, 2001).

Dans le secteur d'alimentation - par exemple - l'addition de protéase à la pâte améliore sa manipulation ainsi que l'élasticité et la texture du gluten en augmentant le volume de la mie (Sicard, 1982). Les protéases sont largement utilisées dans l'industrie des détergents pour enlever les taches lessiviellles. Dans le coté médical elles sont considérées comme régénérateurs des os et de la peau (Site Web 3).

La demande en kératinase thermostable a connue une augmentation considérable ces dernières années dans différents domaines industriels surtout dans la digestibilité des matières premières destinées à la fabrication d'aliment du bétail (farine animale) qui se déroule à haute température (Gupta et Ramnani, 2005). La kératinase thermostable est également employée dans le secteur des textiles afin de modifier les fibres de la laine et de la soie (Riessem et Antranikian, 2001).

Le tannage utilise de nombreuses enzymes protéolytiques, telles que la kératinase pour éliminer les poils et les protéines non désirables (kératine) afin d'obtenir un produit doté de meilleures propriétés finales (CAR/PP, 2003).

### III-2-1-5- Les enzymes cellulolytiques

La cellulose est la source de carbone la plus abondante dans la nature, elle est constituée d'une succession d'unités de glucose liées par des liaisons glucosidiques  $\beta$  (1-4) formants une structure linéaire (Haki et Rakshit, 2003).

Les endoglucanases, exoglucanases et  $\beta$  glucosidases sont les enzymes impliquées dans l'hydrolyse de cette structure résistante et aboutit à la formation d'oligosaccharides, de cellobiose et de glucose (Parry et al., 2001).

**Tableau 8 :** Les enzymes cellulolytiques, origines et propriétés

Enzymes	Microorganismes	Propriétés	Référence
Endoglucanase	<i>Myceliophilora thermophila</i>	T <sub>opt</sub> : 65°C pH <sub>opt</sub> : 4.8	(Maheshwari et al., 2000)
	<i>Thermoascus aurantiacus</i>	T <sub>opt</sub> : 76°C pH <sub>opt</sub> : 2.9	(Maheshwari et al., 2000)
	<i>Thermotoga neapolitana</i>	T <sub>opt</sub> : 70-75°C pH <sub>opt</sub> : 6.0-7.5	(Vielle et Zeikus, 2001)
Exoglucanase	<i>Chaetomium thermophile</i>	T <sub>opt</sub> : 70-75°C pH <sub>opt</sub> : 5.8-6.4	(Maheshwari et al., 2000)
$\beta$ glucosidase	<i>Pyrococcus furiosus</i>	T <sub>opt</sub> : 105°C	(Illanes, 1999)
	<i>Thermoascus aurantiacus</i>	T <sub>opt</sub> : 80°C pH <sub>opt</sub> : 4.5	(Parry et al., 2001)

La dégradation de la cellulose se fait à des températures élevées et a des pH alcalines ce qui rend les cellulases thermostables les bons candidats qui catalysent cette réaction (Haki et Rakshit, 2003).

L'application la plus intéressante des cellulases thermostables concerne les industries de la pulpe de papier et des fibres, où elles sont utilisées pour le blanchissement des pâtes, la fabrication de pâte de bois et la purification des fibres de cellulose par modification de leur surface ou par modification des unions proches des particules d'encre, ce qui libère la teinture de la fibre et permet de la séparer par flottation ou lavage (Heaton, 2004; CAR/PP, 2003).

Dans le secteur des textiles, des cellulases impliquées pour blanchir et vieillir les «Jeans» (Site Web 3) et pour le raffinage de coton qui se fait à des températures environ 100°C (Haki et Rakshit, 2003).

Les détergents pour lave-vaisselle renferment de fortes concentrations de cellulase pour enlever les pelures indésirables résultants de la répétition de lavage (Maheshwari et al., 2000). Elles sont utilisées à la place des tensioactifs ioniques pour améliorer la douceur des tissus en coton, elles sont également actives dans l'élimination des particules de poussières et de terre car elles éliminent les microfibrilles des fibres de coton, ce qui produit de plus un effet de brillantage de la couleur (CAR/PP, 2003).

La réduction et la transformation des déchets à haute teneur en cellulose s'effectuent à haute température via des cellulases thermostables. Les produits issus de la dégradation de cellulose sont des substrats idéals à l'obtention de l'éthanol après une fermentation bactérienne ou levurienne (Heaton, 2004).

Les  $\beta$ glucosidases qui font partie des enzymes cellulolytiques catalysent la réaction de synthèse des alkylglucosidiques par une transglucosylation jouant un rôle important dans l'aromatisation du vin (Parry et al., 2001). Les cellulases «endoglucanases» sont couramment utilisées pour améliorer la liquéfaction et la saccharification de l'amidon à haute température (Vielle et Zeikus, 2001).

#### **III-2-1-6- Les enzymes xylanolytiques**

La xylane est considérée comme la substance polysaccharidique la plus abondante après la cellulose (Meheshwari et al., 2000), sa dégradation nécessite la présence des enzymes «xylanases» qui sont classées en deux familles: la famille 10 groupes et la famille 11 groupes. Les xylanases qui sont stables et actives à des températures comprises entre 50°C et 80°C sont isolées de nombreuses bactéries et mycètes thermophiles (Tableau 9) (Haki et Rakshit, 2003).



**Tableau 9:** Certains microorganismes thermophiles producteurs de xylanases thermostables

Microorganisme	Propriété	Référence
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	T <sub>opt</sub> : 80°C pH <sub>opt</sub> : 6.8-7.0	(Haki et Rakshit,2003)
<i>Bacillus</i> sp. I 1017	T <sub>opt</sub> : 55°C pH <sub>opt</sub> : 7.8	(Samain et al., 1997)
<i>Bacillus stearothermophilus</i>	T <sub>opt</sub> : 65-80°C	(Beaugraud, 2004)
<i>Chaetomium thermophile</i>	T <sub>opt</sub> : 70°C pH <sub>opt</sub> : 4.0-6.0	(Maheshwari et al., 2000)
<i>Thermomyces lanuginosus</i>	T <sub>opt</sub> : 60°C pH <sub>opt</sub> : 6.0	(Mendoza et al., 1998)
<i>Thermus thermophilus</i> X6	T <sub>opt</sub> : 100°C pH <sub>opt</sub> : 6.0	(Lyon et al., 2000)

Actuellement, il y a un besoin pour une xylanase thermostable, utilisable lors des processus biotechnologiques. Dans l'industrie papetière, la recherche d'enzymes telles que les xylanases thermostables destinées principalement à fournir des processus innovants moins polluants en substitution à l'utilisation de composés chlorés (Site Web3) . La xylanase thermostable possède toutes les propriétés adéquates compatibles avec les conditions industrielles réelles de traitement enzymatique de la pâte à papier. Selon les multiples étapes des divers traitements de la pâte à papier mise en œuvre industriellement ces propriétés sont une bonne stabilité vis-à-vis de pH et de la température, une activité enzymatique dans une large gamme de pH et de température, tels que notamment un pH compris entre environ pH=5 et pH=10 et une température comprise entre : 50 et 80°C (De Buyl et al., 2004). Les xylanases permettent l'élimination de xylane des pulpes chimiques des papiers qui est nécessaire pour des raisons esthétiques ainsi que pour améliorer la qualité du produit final (CAR/PP, 2003).

Elles sont utilisées aussi dans la préparation de xylose ou de xylooligosaccharides à partir de l'hemicellulose. Elles sont également employées dans la fabrication d'aliments où leurs propriétés permettent d'améliorer la panification, la clarification de jus de fruits et vin et les qualités nutritionnelles de fibres des céréales. L'utilisation des xylanases dans l'alimentation des volailles permet de diminuer la viscosité des aliments.

La faisabilité technique de telles applications à été principalement évaluée à l'aide d'enzymes produits par des microorganismes mésophiles. Cependant, de telles applications pourraient être facilitées par l'utilisation de microorganismes présentant une meilleure stabilité à la température (Samain et al., 1997).

### III-2-1-7-Les enzymes chitinolytiques

La chitine est une substance insoluble issue de la polymérisation des résidus N-acetylglucosamine (NAG) liées par des liaisons  $\beta$  (1-4) (Tanaka et al., 2001). Dans la nature, la chitine constitue en grande partie l'exosquelette de différents arthropodes (crustacés, insectes) et la paroi cellulaire de certains champignons et algues (Gomes et al., 2001).

La préparation des chitoooligosaccharides peut s'effectuer par l'hydrolyse enzymatique qui fait intervenir des chitiases (Sakai et al., 1994). Ces dernières sont classées selon le mode de clivage des chaînes polysaccharidiques en trois catégories : endochitinases, exochitinases et N-acetyl  $\beta$  hexosaminidases (Tanaka et al., 2001).

**Tableau 10:** Chitinases thermostables : origines et propriétés

Microorganismes	Propriétés	Référence
<i>Bacillus</i> sp. MH1 (Endochitinase)	T <sub>opt</sub> : 65°C pH <sub>opt</sub> : 5.5	(Sakai et al., 1998)
<i>Bacillus</i> sp. 1326	T <sub>opt</sub> : 60°C pH <sub>opt</sub> : 7.0-8.0	(Eyuli et al., 2004)
<i>Bacillus</i> sp. (Endochitinase)	T <sub>opt</sub> : 75°C pH <sub>opt</sub> : 5.5	(Haki et Rakshit, 2003)
<i>B. stearothermophilus</i> (N-acetyl $\beta$ hexosaminidase)	T <sub>opt</sub> : 75°C	(Sakai et al., 1994)
<i>Streptomyces</i> sp. RC 1071 (Endochitinase)	T <sub>opt</sub> : 40°C pH <sub>opt</sub> : 8.0	(Gomes et al., 2001)
<i>Thermococcus kodakaraensis</i> KOD1	-	(Tanaka et al., 2001)

Les chitoooligosaccharides produits par l'hydrolyse enzymatique de la chitine et de la chitosane ont des applications diverses dans le secteur médical, agricole et industriel.

En médecine, les chitoooligosaccharides sont considérés comme agents antibactériens, antifongiques, hypocholestérolémiques et aussi antihypertensifs (Eyuli et al., 2004). Certains chitoooligosaccharides jouent le rôle d'activateur de la phagocytose ou d'inhibiteur de certaines tumeurs (Vielle et Zeikus, 2001).

En alimentation, les chitoooligosaccharides sont des améliorants de qualité nutritionnelle (Eyuli et al., 2004).

En agriculture, les chitinases thermostables sont utilisées dans le biocontrôle des champignons phytopathogènes (Gomes et al., 2001). La dégradation biologique de matériel chitineux se fait à haute température via des chitiases thermostables et permet le recyclage des nutriments dans la plupart des environnements (Sakai et al., 1998; Tanaka et al., 2001).

**III-2-1-8- Autres enzymes thermostables**

Il existe d'autres enzymes thermostables présentant un intérêt biotechnologique important.

**Tableau 11** : Autres enzymes des thermophiles et leurs applications

<b>Enzyme</b>	<b>Application</b>	<b>Référence</b>
Phytase	-Production de la farine animale	(Hassouni et al., 2006)
Pectinase	-Extraction des jus de fruits -Production de vin	(Vielle et Zeikus, 2001)
L-aminocyclase	-Production des acides amines -Bioconversion des intermédiaires pharmaceutiques	(Taylor et al., 2004)
Alcool deshydrogenase	-Biodégradation des composés halogéniques toxiques	(Little child et al., 2007)
$\gamma$ lactamase	-Synthèse des agents chimiotherapeutiques appelés: Nucléosides carbocycliques utilisés dans les traitements des infections virales et comme vasodilateurs cardiaques	(Little child et al., 2007)
BamIB	-enzyme de restriction	(Larpent et Gourgaud, 1997)
Maltodixtrin transglucosidase	-Utilisation dans les processus de conversion de l'amidon	(Raasch et al., 2002)
Phosphatase alcaline	-La détection non isotopique	(Scriban, 1999)
Arabinose isomérase	-Additif intéressant dans le domaine agroalimentaire -Agent thérapeutique et préventif dans le domaine médical	(Bejar, 2006)

### III-3- Applications industrielles

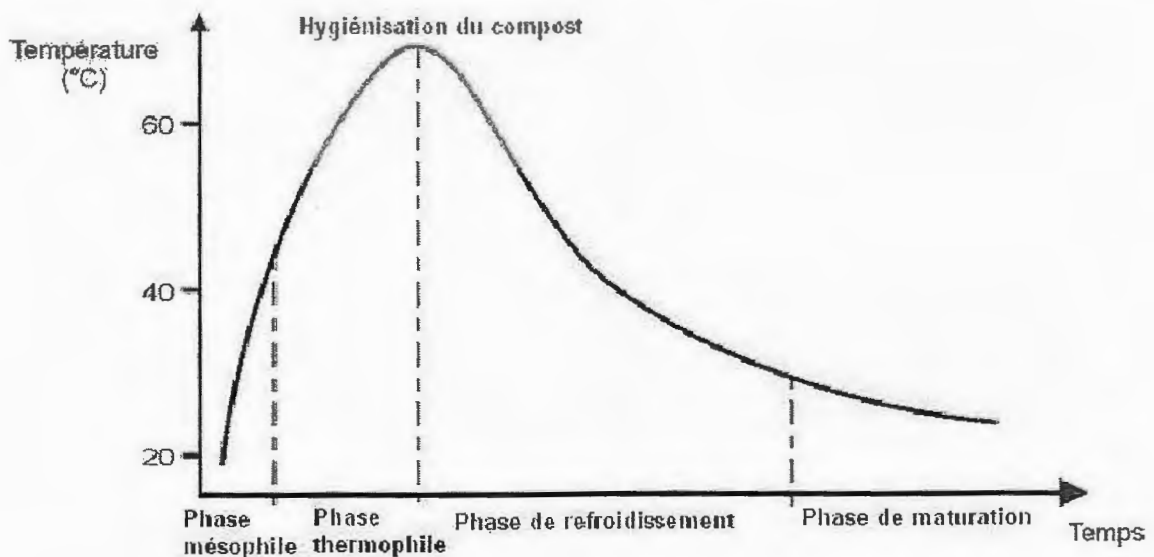
La microbiologie industrielle -partie intégrante des biotechnologies- est un secteur et un enjeu important de l'économie mondiale. Les microorganismes utilisés industriellement appartiennent essentiellement à quatre groupes, bactéries, actinomycètes, levures et moisissures. Les capacités de synthèse des microorganismes ne sont pas réservées aux seules industries alimentaires et pharmaceutiques ; les microorganismes sont également susceptibles de produire des matières premières ou des substances chimiques industrielles directement utilisables (Leduc- Lebaleur, 1991).

#### III-3-1- Le compostage

La réoccupation croissante relative à la dégradation des terres, à l'utilisation irrationnelle des engrais minéraux, à la pollution de l'air, à la qualité du sol, à la biodiversité du sol et à la santé publique ont ravivé l'intérêt à l'égard des pratiques de recyclage de matières organiques tel que le compostage (Misra et al., 2005).

Le compostage est un processus de conversion biochimique par biodégradation aérobie des matières organiques carbonées et azotées d'origine animale et végétale sous l'action des populations microbiennes diversifiées en un produit appelé «compost» de composition stable et riche en substances humiques (Soudi, 2005). Plusieurs paramètres essentiels doivent être maîtrisés pour garantir un bon démarrage de compostage : l'aération, humidité, rapport C/N, pH et température (Site web 4).

Le processus de compostage peut être décomposé en quatre phases : La phase mésophile, la phase thermophiles, la phase de refroidissement et la phase de maturation (Figure 4) (Znaidi, 2002).



**Figure 4 :** exemple d'évolution de température pendant le compostage (Pagnot et al., 2006).

Parmi les phases précédentes, la phase qui nous intéresse est celle du thermophile, pendant laquelle l'activité microbienne amène un dégagement de chaleur et permet au compost d'atteindre des températures autour de 60°C. En effet des microorganismes mésophiles ne peuvent se développer à des températures élevées se sont des microorganismes thermophiles dominés par les bactéries mais aussi les champignons et les actinomycètes qui vont prendre la relève (Labrie, 1998).

Lorsque les conditions d'humidité, d'oxygénation et les besoins nutritifs des microorganismes responsables du compostage sont satisfaites. Ces derniers prolifèrent, transforment la matière organique relâchent de la chaleur, de la vapeur d'eau, du dioxyde de carbone (CO<sub>2</sub>), du méthane, d'hydrogène (H<sub>2</sub>) et d'acide organique comme sous produits métaboliques (Lasseur et al., 2002).

Après extraction et purification, ces acides organiques sont des agrosolvants, leurs principales fonctionnalités sont identiques à celles des solvants classiques. Se seront des dégraissants, adjuvants, diluants, pesticides et purifiants (Quelenis, 2007). De nombreux produits alimentaires contiennent une teneur élevée en acides organiques soit parce que des acides organiques leurs sont volontairement ajoutés (confiseries, boissons...) .Dans ces produits l'acidité participe à la conservation, mais est également recherchée pour la flaveur qu'elle apporte (Chêne, 2002).

### III-3-2- Production des biogaz

Autre le compostage, la digestion anaérobie des déchets organiques et des effluents organiques industriels qui est un processus biologique de décomposition de la matière organique présente et aussi conduit à la formation de biogaz: méthane (CH<sub>4</sub>), gaz carbonique (CO<sub>2</sub>), l'hydrogène (H<sub>2</sub>), l'ammoniaque (NH<sub>3</sub>)...etc. (Héteu et Martin, 2003).

On peut différencier trois types de digestion anaérobie selon les zones de température dans lesquelles s'opère le processus soit basse, moyenne ou élevée, les limites variant d'un auteur à l'autre (Scriban, 1999) .

- Digestion psychrophile: basse température 10 à 25 °C.
- Digestion mésophile: température moyenne 30 à 45 °C.
- Digestion thermophile: température élevée : 50-65°C.

La fermentation thermophile permet une production plus élevée des biogaz par tonne de déchets traités et peut atteindre des cadences de chargement significativement plus élevées. La valeur ajoutée d'un fonctionnement à une température de 50°C réside dans le fait que des agents pathogènes humains sont détruits à ces températures ce qui améliore l'hygiène (De Baere, 2005).

Parmi les communautés microbiennes thermophiles responsables de cette décomposition, les Thermotogales qui peuvent produire une grande quantité d'H<sub>2</sub> à partir des déchets agricoles à une température élevée, sous pression atmosphérique et avec un faible taux d'oxygène (Site web 5).

Le méthane fait du biogaz, une excellente source d'énergie renouvelable pour remplacer le gaz naturel et d'autres combustibles fossiles. Ce biogaz est généralement utilisé pour alimenter les chaudières des usines ainsi que les groupes électrogènes à moteur afin de produire de l'électricité et de la chaleur qui sert au séchage de matériaux, à la réfrigération et au chauffage des bioréacteurs (Ho, 2006). Parmi les microorganismes producteurs de ce biogaz on a, *Methanobacterium thermoautotrophicum* (Larpent et Gourgaud, 1985).

### III-3-3- Production d'éthanol

L'éthanol  $C_2H_5OH$  ou l'alcool éthylique peut être produit par fermentation de matières premières agricoles telles que le maïs, le blé, l'orge et la canne à sucre, il peut aussi provenir de matières cellulosiques renouvelables comme les déchets forestiers, les résidus de bois et les résidus agricoles (Thonart et al., 2007).

Les microorganismes thermophiles sont intéressants dans la production d'éthanol car la production est forte, la biomasse faible, la fermentation est rapide, les dangers de la contamination sont supprimés, les produits volatils peuvent se distiller en continu à partir du fermenteur, le refroidissement n'est plus facile. Parmi ces microorganismes : *Clostridium thermohydrosulfuricum*, *Thermoanaerobium brockii*, *Thermoanaerobacter ethanolicus* (Larpent et Gourgaud, 1985).

L'éthanol est utilisé principalement dans la transformation des aliments et dans l'industrie pharmaceutique (Ah-you et al., 2000). Il possède aussi un haut pouvoir solvant (Quelenis, 2007). L'éthanol fut d'abord employé pour des raisons de sécurité énergétique et de diversification des carburants afin de réduire la dépendance aux carburants à base de pétrole. On assiste présentement à un regain d'intérêt pour l'utilisation croissante d'éthanol produit à partir de matières premières renouvelables dans le but de réduire les émissions de dioxyde de carbone ( $CO_2$ ) un gaz à effet de serre qui contribue au réchauffement de la planète (Prakash, 1998).

### III-3-4-La biolixiviation

La biolixiviation est la technique d'extraction d'éléments chimiques de minerais, de concentrés et de roches par l'action solubilisantes de microorganismes ou de leurs métabolites à une pression normale et à une température qui peut atteindre  $80^\circ C$  (Larpent et Gourgaud, 1985).

Ce procédé est souvent combiné à une lixiviation au moyen de solutions diluées d'acide sulfurique d'origine bactérienne ou chimique ainsi que de solutions contenant des acides organiques, des protéines, des polysaccharides et d'autres produits de synthèse microbienne (Prescott et al., 2003).

Pour la biolixiviation des métaux lourds, des microorganismes thermophiles sont couramment utilisés. Parmi les thermophiles modérés ( $50^\circ C$ ) : *Sulfobacillus thermosulfidooxidans* et parmi les thermophiles extrêmes ( $65-80^\circ C$ ) plusieurs souches de *Sulfolobus*, ces microorganismes résistants aux concentrations en métaux «travaillent» à des conditions très acides par oxydation du fer ferreux et des sulfures libérant ainsi des ions métalliques qui seront lessivés hors du milieu (Lecomte, 1998).

La biolixiviation semble donc une alternative prometteuse sur le plan économique mais également vis-à-vis de l'environnement, les métaux se retrouvant en solution peuvent en effet être précipités sous forme de produits stables et non polluants (Leduc-Lebaleur, 1991).

### **III-3-5- Autres applications industrielles**

#### **III-3-5-1- Traitement des eaux usées**

D'autres applications industrielles des microorganismes thermophiles concernent le traitement anaérobie des eaux usées urbaines ou industrielles par fermentation dans un réacteur fermé appelé fermenteur en présence des bactéries méthanogènes thermophiles à une température de l'ordre de 60°C (Site Web 6).

#### **III-3-5-2- Extraction du pétrole**

En associant les caractères thermophiles et halophiles, on se rapproche des conditions qui existent souvent dans les puits de pétrole. Certaines bactéries extraites de ces biotopes : *Geobacillus pallidus*, *Brevibacillus thermoruber* et *G. stearothermophilus* ont la particularité de produire des détergents naturels parfaitement biodégradables capables de libérer le pétrole des interstices et cavités dans lesquels il est prisonnier, après injection d'eau ou de gaz dans les puits (Sayadi, 2006).

#### **III-3-5-3- Biosenseurs**

L'intérêt des scientifiques se porte également vers la conception de biocapteurs véritables électrodes enzymatiques, stérilisables à la chaleur, donc dérivés d'organismes thermophiles ainsi que de «puces» biologiques dans le domaine de la bioélectronique, stable à haute température (Leduc -Lebaleur, 1991).

#### **III-3-5-4- Biodiesels**

Les biodiesels produits à partir de la biodégradation des huiles végétales telles que par exemple- l'huile de pépins, huile de raisins....etc. Cette biodégradation se fait à l'aide des lipases généralement thermostables (Kumar et al., 2005). Le meilleur potentiel d'utilisation des biodiesels est probablement son emploi comme additif pour réduire la teneur en soufre du pétrodiesel et améliorer ses propriétés lubrifiantes sans augmentation importante du prix (Ah- you et al., 2000).

### III-4 - Les microorganismes thermophiles et les techniques moléculaires

Une technique pour détecter une fonction exprimée par un microorganisme consiste à utiliser le clonage d'expression. Cette méthode a pour principe d'extraire l'ADN de microorganisme de départ, à le fragmenter, et à l'insérer dans un vecteur d'expression *in vitro* qui est transformé dans un hôte. Cet hôte est choisi pour sa capacité de s'exprimer des gènes des microorganismes de départ. De la même façon le vecteur est toujours choisi pour sa compatibilité avec l'hôte d'expression (Primrosse et al., 2004).

Le clonage et l'expression dans les hôtes sont couramment utilisés par la majorité des entreprises productrices d'enzymes pour fournir des biocatalyseurs aux processus industriels (Illanes, 1999). L'expression des gènes codants pour des enzymes thermostables dans les mésophiles présente plusieurs avantages :

- La production d'enzymes recombinantes peut devenir facile.
- Les systèmes mésophiles, ont eu un taux de production élevé. (Haki et Rakshit, 2003).
- Les enzymes résultantes conservent leurs propriétés de thermostabilité (Illans, 1999).

**Tableau 12:** Exemples des gènes des thermophiles codants pour des enzymes thermostables clonés dans des hôtes mésophiles

Gène codant pour :	Donneur	Accepteur	Remarque	Référence
$\alpha$ amylase	<i>Thermococcus hydrothermalis</i>	<i>Escherichia coli</i>	L'enzyme garde ses propriétés initiales	(Levêque et al., 2000)
Lipase	<i>Geobacillus thermoleovorans</i> ID.1	<i>E. coli</i>	L'activité enzymatique est augmentée 1,4 fois	(Cho et al., 2000)
	<i>Geobacillus</i> sp. TW1	<i>E. coli</i> BL21	Surexpression du gène codant pour l'enzyme	(Li et Zhaing, 2005)
	<i>Bacillus stearothermophilus</i> P1	<i>E. coli</i> M15	Surexpression	(Sinchaikul et al., 2001)
	<i>Bacillus</i> sp. Tp 1017-1	<i>E. coli</i> L21-SI	-	(Sunna et al., 2002)
TopoisomeraseI	<i>Thermotoga maritima</i>	<i>E. coli</i>	Conservation des propriétés de l'enzyme	(Habib et Michel, 2007)
Cellulase	<i>Pyrococcus furiosus</i>	<i>Clostridium</i>	Augmentation de la production	(Haki et Rakshit, 2003)
xylanase	<i>Thermotoga neapolitana</i>	<i>E. coli</i>	-	(Haki et Rakshit, 2003)





# *Conclusion*

## Conclusion

Les microorganismes thermophiles et hyperthermophiles poussent de façon optimale à des températures élevées. Ils colonisent tous les environnements chauds terrestres et marins et présentent des mécanismes d'adaptation particuliers.

Les microorganismes thermophiles et hyperthermophiles sont intéressants non seulement pour des raisons biologiques de base mais également pour d'autres raisons. Ces microorganismes offrent des avantages majeurs aux processus industriels et biotechnologiques qui sont couramment effectués à haute température. La caractéristique la plus importante de ces microorganismes est leur capacité à produire des enzymes thermostables qui remplacent actuellement les catalyseurs chimiques classiques dans le domaine des industries pharmaceutiques, papetières, chimiques, agricoles, textiles et alimentaires.

Nous pouvons tout de même observer que les microorganismes thermophiles restent un champ d'investigation étonnant et un défi pour les scientifiques aussi bien que les communautés commerciales.



## *Références bibliographiques*

## Références bibliographiques

- Abdel –fattah Y.R. (2000). Optimization of thermostable lipase production from a thermophilic *Geobaullus* sp. using Box Behnken experimental design. *Biotechnol. Lett* 24: 1217-1222.
- Ah-you K., Suleiman M. et Jaworski J. (2000). La biotechnologie au service d'une production plus propre au Canada (p: 105). Direction générale des sciences de la vie. Laboratoire PRDE (Canada). <http://dsp-psd.pwgsc.gc.ca/collection/C47-3-2000F.pdf>
- Beaugraud J. (2004). Base cytologique et moléculaire de la dégradation enzymatique du son de blé tendre. (p: 202). Thèse de doctorat. Université de REIMS Champagne (Ardenne).
- Bejar S. (2006). Enzymes microbiennes d'intérêt industriel (p: 9-27). Rapport d'activité du centre de biotechnologie de SFAX RA/ CBS. [http://cbs.rnt.tn/rapport\\_cbs/2006.pdf](http://cbs.rnt.tn/rapport_cbs/2006.pdf)
- Bousseboua H. (2005). Eléments de microbiologie. 2<sup>ème</sup> édition. Edition campus club Constantine (Algérie).
- Centre d'activité régionale pour la production propre CAR/ PP (2003). Plan d'action pour la méditerranée. Application de la biotechnologie dans l'industrie (p : 125). <http://www.cprac.org/pdf/estudis/generals/biotechnologiaFRA.pdf>
- Chêne C. (2002). Les acides organiques. Journal de Adrianor (Paris). [http://www.Adrianor.com/adrianor/les%20dossiers%20technique%20CEA\\_fichiers /les%200 acides % 202 pdf](http://www.Adrianor.com/adrianor/les%20dossiers%20technique%20CEA_fichiers /les%200 acides % 202 pdf)
- Cho A.R., Yoo S.K. and Kim E.J. (2000). Cloning sequencing and expression in *Escherichia coli* of thermophilic lipase from *Bacillus thermoleovorans* ID-1. *FEMS Microbiol. Lett.*186: 235-238.
- Çolak A., SiŞik D. Sağlam N., Güner S., Çankçi S. and Beldüz A.O. (2005). Characterization of a thermoalkalophilic esterase from a novel thermophilic bacterium, *Anoxybacillus gnensis* G2. *Bioresource Technol.* 96: 625-631.
- Connaris H., Cowan O.A., and Sharp R.J. (1991). Heterogeneity of proteinases from the hyperthermophilic archaeobacterium *Pyrococcus furiosus*. *J. Gen. Microbiol.* 173:1193-1199.

- De Baere L. (2005). La technologie DRANCO: Une technologie unique de digestion anaérobie des déchets organiques solides. Organic Waste Systems OWS (Belgique).<http://www.ows.be/pages/index.php?menu=898submenu=145>  
etchoose\_lang=FR
- De Buyl E., Lahaye A., Ledoux. P. and Detroz R. (2004). Xylanase derived from *Bacillus* species, expression vectors for such xylanase and other proteins, host organisms therefore and use thereof. Domestic Patent EP0634490A.
- Desmarteaux D., Quenneville Y. et Lau P. (2006). Nouvelle estérase enantiosélective et thermostable pour la résolution de mélanges racémiques. Conseil Nationalde Recherche L 11654 (Canada).  
[http://www.bri.nrc.gcca/files/portfolio\\_fr.pdf](http://www.bri.nrc.gcca/files/portfolio_fr.pdf)
- Dominguez A., Sanroman A., Fucinos P., Rua M.L., Pastrana L. and Longo M.A. (2004). Quantification of intra and extra-cellular thermophilic lipase/esterase. Production by *Thermus* sp. Biotechnol. Lett. 26: 705-708.
- Eggen R., Geerling A., Watts J. and Devos W.M. (1990). Characterization of pyrolysin, a hyperthermoactive serine protease from the archaeobacterium *Pyrococcus furiosus*. FEMS Microbiol. Lett. 71: 17-20.
- Etienne J. (1995). Biochimie génétique Biologie moléculaire. 5<sup>ème</sup> édition. Masson (Paris).
- Ewis H.E., Abdelal A.T. and Lu C.D. (2004). Molecular cloning and characterization of two thermostable carboxylesterase from *Geobacillus stearothermophilus*. Genes and Genomes 329: 187-195.
- Eyuli P., Suhartono M.T., Rukadi Y., Hwring J.K. and Pyum Y.R. (2004). characteristics of thermostable chitinase enzymes from the Indonesian *Bacillus* sp. 13.26. Enz. Microb. Technol. 35: 147-153.
- Friedrich A.B. and Antranikian G. (1996). Keratin degradation by *Fervidobacterium pennavorans*, a novel thermophilic anaerobic species of the order Thermotogales. Appl. Environ. Microbiol. 62: 2875-2882.
- Fujita M. and Kanehisa M. (2005). Comparative analysis of DNA binding proteins between thermophilic and mesophilic bacteria. Genome informatics 16: 174-181.
- Fujiwara N. Masui A. and Imanaka T. (1993). Purification and properties of the highly thermostable alkaline protease from an alkalophilic and thermophilic *Bacillus* J. Biotechnol. 30: 245- 256.

- Gomes R.C., Sêmedo L.T.A.S., Soares R.M.A., Linhares L.F., Ulhoa C.J., Alviano C.S. and Coelho R.R.R. (2001). Purifications of a thermostable endochitinase from *Streptomyces* RC1071 isolated from a Cerrado soil and it's antagonism against phytopathogenic fungi. *J. Appl. Microbiol.* 90: 653-661.
- Guangrong H., Dehui D., Weilian H .and Jiaxin J. (2008). Optimization of medium composition for thermostable protease production by *Bacillus* sp. HS08 with a statistical method. *Afr. J. Biotechnol.* 7: 1115-1122.
- Gupta R. and Ramnani P. (2005). Microbial keratinases and their prospective application: an overview. *Appl. Microbial. Biotechnol.*70: 21-33.
- Habib K. et Michel D. (2007). Etude des ADN topoisomérasés de type I chez une famille de bactéries thermophiles, les Thermotogales: clonage, séquençage et expression dans *E. coli* (p : 154). Thèse de doctorat. Université de Paris 11, Orsay, (France).
- Haki G.D. and Rakshit S.K. (2003). Developments in industrially important thermostable enzymes. *Bioresour. Technol.* 89: 17-34.
- Hartl .D.L. et Jones E.W. (2003). Génétique: Les grands principes. 3<sup>ème</sup> édition. Dunod (Paris).
- Hassouni H., Ismaili.-Alaoui M., Augur C., Gaine- perraud I., Cheheb M.et Roussos. (2006). Production de phytase par les champignons thermophiles filamenteux cultivés sur FMS. Institut agronomique et vétérinaire Hassan II (IAV). [http : // www.iav- recherche. ma/documentation/3.pdf](http://www.iav-recherche.ma/documentation/3.pdf)
- Heaton K. (2004). Industrial uses of thermophilic cellulase. *Proteins. Struct. Funct.*
- Héteu P.T et Martin J. (2003). Conversion biochimique de la biomasse aspects technologiques et environnementaux (p: 27). Université Catholique De Louvain UCL. [http://www. term.ucl.ac.be/recherche/TRACTEBEL/WP3-TERM.pdf](http://www.term.ucl.ac.be/recherche/TRACTEBEL/WP3-TERM.pdf)
- Ho M -W. (2006). Comment être bien pourvus en carburants et en combustibles, ainsi qu'en nourriture malgré le changement climatique (P: 44). The Institute of Sciences in Society ISIS (Grande Bretagne). [http://www.i- sis.org.uk/pdf/HTBAFRUCCFR.pdf](http://www.isis.org.uk/pdf/HTBAFRUCCFR.pdf)
- Illanes A. (1999). Stability of biocatalysts. *Elec. J. Biotechnol.* 2:1-9.

- Jensen B. and Olsen J. (1992). Physicochemical properties of a purified alpha amylase from the thermophilic fungus *Thermomyces lanuginosus*. *Enz. Microb. Technol.* 14: 112-116.
- Kamborova M., Kirilova N., Mandeva R. and Derekova A. (2003). Purification and properties of lipase from a thermophilic *Bacillus stearothermophilus* M07. *J. Mol. Catal. B: enzyme*: 22: 307-313.
- Koch A., Zablowski P., Spreinat A. and Antranikain G. (1990). Extremely thermostable amylolytic enzyme from the archaeobacterium *Pyrococcus furiosus*. *FEMS Microbiol. Lett.* 71: 21-26.
- Kumar S. and Nussinov R. (2001). How do thermophilic proteins deal with heat? *Cell. Mol. Life Sci.* 58: 1216-1233.
- Kumar S., Kikon K., Upadhyay A., Kanwar S. S. and Gupta R. (2005). Production, purification and characterization of lipase from thermophilic and alkaliphilic *Bacillus coagulans* BTS-3. *Protein expression Purif.* 41:38-44.
- Labrie C., Leclerc P. Côté N., Roy S., B (1998). Recherche sur les propriétés photoprotectrices de compost de résidus chitineux. Université Sherbrook (Canada). <http://www.collectionscanada.gc.ca/obj/s4/f2/dsK.2/ftp03/MQ5692.pdf>
- Larpent J.P. et Gourgaud M. (1985). *Éléments de microbiologie*. Hermann Editeurs des sciences et des arts (Paris).
- Larpent J.P. et Gourgaud M. (1997). *Mémento technique de microbiologie*. 3<sup>ème</sup> édition. Tec et Doc (Paris).
- Lasseur C.A.A., Richaet J.E.N. and Vestrat W.H. (2002). Organic wastes processing method and plant, and uses of said method. Domestic Patent EP0882135.
- Lecomte P. (1998). *Les sites pollués traitement des sols et des eaux souterrains*. 2<sup>ème</sup> édition. Tec et Doc (Paris).
- Leduc-Leballeur C. (1991). *Les bactéries de l'extrême : une nouvelle voie de recherche sur les formes de vie les plus primitives*. Oriston Actualité N° 33 (Paris).
- Lefebvre O. (2006). *Applications des microorganismes halophiles au traitement des effluents industriels hypersalins* (p : 112).Thèse de doctorat. université de Chennai (Inde).
- Levêque E., Haye B. and Belarbi A. (2000). Cloning and expression of an  $\alpha$  amylase encoding gene from the hyperthermophilic archaeobacterium

- Thermococcus hydrothermalis* and biochemical characterization of the recombinant enzyme. FEMS Microbiol. Lett. 386: 67-71.
- Li H. and Zhanig X. (2005). Characterization of thermostable lipase from thermophilic *Geobacillus* sp. TW1. Protein expression and purif. 42: 153-159.
  - Lin L.L., Chyau C.C. and Hsu W.H. (1998). Production and properties of a raw-starch degrading amylase from the thermophilic and alkalophilic *Bacillus* sp. TS-23. Biotechnol. Appl. Biochem. 25: 61-68.
  - Little child J.A., Guy J., Connelly S., Mallett L., Waddell S., Rye C.A., Line K. and Isupov M. (2007). Natural methods of protein stabilization: thermostable biocatalysts. Biochem. Soc. Transactions. 35: 1558-1563.
  - Lyon P.F., Beffa I., Blanc M., Auling G. and Aragno M. (2000). Isolation and characterization of highly thermophilic xylanolytic *Thermus thermophilus* strains from hot composts. Can.J.Microbiol. 46: 1029-1035.
  - Madigan M.T., Martinko J.M. and Parker J. (2003). Brock biology of microorganisms. 10<sup>th</sup> edition. Pearson education, INC (USA).
  - Maheshwari R., Bharadwaj G. And Bhat M.K. (2000). Thermophilic fungi: their physiology and enzymes. Microbiol. Mol. Biol. Rev. 64: 488- 561.
  - Malhotra R., Moorwez S.M and Satyanarayana T. (2000). Production and partial characterization of thermostable and calcium-independent  $\alpha$  amylase of an extreme thermophile *Bacillus thermolevorans* NP54. Lett. Appl. Microbiol. 31: 378-384.
  - Mamo G., Gashe B.A. and Gessesse A. (1999). A highly thermostable amylase from a newly isolated thermophilic *Bacillus* sp. Wn 11. J. Appl. Microbiol 86: 557-560.
  - Mc Donald J.H., Grasso A.M. and Rejto L.K. (1999). Patterns of temperature adaptations from *Methanococcus* and *Bacillus*. Soc. Mol. Biol. Evol. 16: 1785-1790.
  - Mc Donald J.H. (2001). Patterns of temperatures adaptation in proteins from the bacteria *Peinococcus radiodurans* and *Thermus thrmophilus*. Soc. Biol. Evol. 18: 741-749
  - Mendoza N.S., Monciano N. and Delacruz E.D. (1998). Production and characterization of thermostable cellulase. Free-Xylanase from *Thermomyces lamuginosus* 10. Annual Reports of Biotech. 21: 487-492.



- Misra R.V., Roy. R.N. et Hiraoka H. (2005). Documents de travail sur les terres et les eaux "Méthodes de compostage au niveau de l'exploitation agricole". Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture (Rome). <http://www.4.fao.org/cgi-bin/faobib-exe?rec-id=5643328&datas=fabib&searche-type=linketable-patch=/faobib/monaetlang=en&getforma-nam-EFMON>
- Okamoto M., Yonejima Y., Tsujimoto Y., Suzuki Y., and Watanabe K. (2001). A thermostable collagenolytic protease with a very large molecular mass produced by thermophilic *Bacillus* sp. strain MO-1. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 57: 103-108.
- Pagnot S., Lebrisse F. et Canuel S. (2006). Le compostage en fosse en milieu tropical. Licence professionnelle gestion et traitement des déchets de l'ons le saunier LPGTD. [http://www.projets.Lp.gtd.info/dakarcompost/dossier\\_compostage.pdf](http://www.projets.Lp.gtd.info/dakarcompost/dossier_compostage.pdf)
- Parry N.J., Beever D.E., Owen E., Vandenberghe I. and Beeumen J.V. (2001). Biochemical characterization and mechanism of action a thermostable  $\beta$ -glucosidase purified from *Thermoascus aurantiacus*. *Biochem. J.* 363: 117-127.
- Perry J.J., Staily J.T., et Lory S. (2004). *Microbiologie*. Dunod. (Paris).
- Postec A. (2005). Diversité de population microbienne thermophile d'une cheminée hydrothermale océanique : culture d'enrichissement en bioréacteur et isolement d'espèces nouvelles (p: 292). Thèse de doctorat. Université de Provence (Aix –Marseille).
- Prakasch C. (1998). Utilisation dans les véhicules a essence de mélanges éthanol-essence contenant plus de 10% en volume d'éthanol. Direction générale de la pollution environnement (Canada). <http://www.ec.gc.ca/cleanair.airpur/CAOL/transport/publication/ethgas/ethgasfr.pdf>
- Prescott C. M., Harley J.P. et Klein D. (2003). *Microbiologie*. 2<sup>ème</sup> édition. Deboeck (Paris).
- Primrosse S., Twyman A. et Old R. (2004). *Principe de génie génétique*. 1<sup>ère</sup> édition. Deboeck (Paris).
- Quelenis N. (2007). Les agrosolvants ou biosolvants. Fiche technique N° 20- arist. champagne Ardenne.

[http://www.champagne-ardenne.cci.fr/plate=forme/Autoindex-u1/veilles/fiches\\_techniques/agro-intustrie%20info/200720\\_agrosolvants.pdf](http://www.champagne-ardenne.cci.fr/plate=forme/Autoindex-u1/veilles/fiches_techniques/agro-intustrie%20info/200720_agrosolvants.pdf)

- Raasch C., Roujeinikova A., Meissner H., Rice D.W and Liebbel W. (2002). Biochemical properties and structural features, of the thermostable maltodextrin transglucosidase from *Thermotoga maritima*. *Biologia*. 11: 101-108.
- Reissemer S. and Antranikian G. (2001). Isolation of *Thermoanaerobacter keratinophilus* sp. nov., novel thermophilic, anaerobic bacterium with keratinolytic activity. *Extremophiles* 5: 399-408.
- Roger O. (2002). Etude d'oligosaccharides bioactifs issus d'expolysaccharides bactériens: obtention, caractérisation et relation structure fonction. Thèse de doctorat (p: 197). Université Paris13.
- Sakai K., Narihara M., Kasama Y. Wakayama M. and Moriguchi M. (1994). Purification and characterization of thermostable  $\beta$ -N-acetylhexosaminidase of *Bacillus stearothermophilus* CH -4 isolated from chitine- containing compost. *Appl. Environ. Microbiol.* 60: 2911-2915.
- Sakai K., Yokota A., Kurokawa H., Wakayama M. and Moriguchi M. (1998). Purification and characterization of three thermostable endochitinases of a noble *Bacillus* strain MH 1, isolated from chitin containing compost. *Appl. Environ. Microbiol.* 64: 3397-3402.
- Samain E., Debeire P., Debeire-gosselin M. and Touzel J.P. (1997). Xylanase producing *Bacillus* and application thereof. Domestic Patent EP19920906385.
- Sayadi S. (2006). Exploitation des activités microbiennes pour la biodégradation ou la bioconversion de plusieurs rejets urbains et industriels (p: 71-95). Rapport d'activité du centre de biotechnologies de SFAX. (RA/CBS).[http://cbs.rnt.tn/rapport\\_cbs/2006.pdf](http://cbs.rnt.tn/rapport_cbs/2006.pdf)
- Scriban R. (1999). *Biotechnologie*. 5<sup>ème</sup> édition. Tec and Doc (Paris).
- Sharma R., Soni S.K., Vohra R.M. Gupta K.K. and Gupta J.K. (2002). Purification and characterization of a thermostable alkaline lipase from a new thermophilic *Bacillus* sp. RSJ-1. *Process. Biochem.* 37: 1075-184.
- Shaw J.F., Lin F.P., Chen S.C. and Chen H.C. (1995). Purification and properties of an extracellular  $\alpha$  amylase from *Thermus* sp. *Bot. Bull. Acad. Sin.* 36: 195-200.

- Sicard P. (1982). Applications industrielles des enzymes dans enzymes production et utilisations industrielles. 1<sup>ère</sup> édition. Guathier-Villars (Paris).
- Sinchaikul S., Sookkheo B., Phutrakal P.S., Pan K. and Chen S.T. (2001). Optimization of a thermosatable lipase from *Bacillus stearothermophilus* P1: overexpression, purification and characterization. Protein Expression and Purif. 22: 388-398.
- Singleton P. (1994). Bactériologie. 2<sup>ème</sup> édition. Masson (Paris).
- Soltani M. (2004). Distribution lipidique et voies métaboliques chez quatre bactéries Gram négatif hydrocarbonoclastes- variation en fonction de source de carbone (p: 284). Thèse de doctorat. Université de Pierre et Marie Curie (Paris).
- Souidi B. (2005). Le compostage des déchets de cultures sous serre et du fumier (P:6). Bulletin mensuel d'information et de liaison du PNTTA N° 129.
- Stetter K.O. (1999) Extremophils and their adaptation to hot environment. FEMS Lett. 452: 22-25.
- Sunna A., Hunter L., Hutton C.A. and Bergquist P.L. (2002). Biochemical characterization of a recombinant thermoalkalophilic lipase and assessment of its substrate enantioselectivity. Enz. Microb. Technol. 31: 472-476.
- Tanaka T., Fukui T. and Imanaka T. (2001). Different cleavage specificities of the dual catalytic domains in chitinase from the hyperthermophilic archaeon *Thermococcus kodakaraensis* KOD1. J. Biol. Chem. 276: 35629-35635.
- Taylor I.N., Brown R.C., Bycroft M., King G., Little child J.A., Liloyd M.C., Praquin C., Toogood H.S. and Taylor S .J.C (2004). Application of thermophilic enzymes in commercial biotransformation processus. Biochem. Soc. Transactions 32: 290-292.
- Thonart P., Didden I., Hiligsmann S., Rodriguez S., Delvigne F., Aldrie J.M et Destain J. (2007). Apport de biotechnologie pour une valorisation énergétique des matières premières renouvelables. Centre Wallon de biologie industrielle. Université de Liège, <http://www.ef4-be/documents/environnements/dechets-energie/7-fsagx-thonartd.pdf>
- Tsiroulnikov K., Rezai H., Bonch-osmolovskaya G., Nedkov P., Gousterova A., Cueff V., Godfroy A., Barbier B., M et Rop., Chabert J.M., Clayette P., Dormont D., Grosclande J. et Haertle T. (2004). Utilisation des microorganismes dans

- l'hydrolyse des amyloïdes et des farines animales. INRA Prod. Anim., Numero hors série (p: 109-116).
- Uma Maheswar Rao J.L. and Satayanarayana T. (2003). Enhanced secretion and low temperature stabilization of a hyperthermostable and  $\text{Ca}^{2+}$  independent  $\alpha$ -amylase of *Geobacillus thermoleovorans* by surfactants Lett. Appl. Microbiol. 36: 131-196.
  - Vielle C. and Zeikus J. (2001). Hyperthermophilic Enzymes: sources, uses and molecular mechanisms for thermostability. Microbiol. Mol. Biol. Rev. 65: 1-43.
  - Znaidi I.E. (2002). Etude et évaluation du compostage de différents types de matières organiques et des effets des jus de compostes biologiques sur les maladies des plantes (p: 94). Thèse de Master. C.I.H.E.A.M. Mediterranien Agronomic Institute of BARI (Tunisie)
  - Site web 1 : <http://www.astrosurf.com/luxarion/bioastrovie.thermophile.htm>
  - Site web 2: <http://www.horizonpress.com/rtmc>
  - Site web 3: <http://www.fremer.fr/exploration/enjeuxbiotech/index.htm>
  - Site web 4: <http://www.fao.org/docrep/008/y5104f/y5401f05.htm>
  - Site web 5: <http://www.formus.cleocene.org/memberslist.phplmod.view.profile=79>
  - Site web 6 :<http://www.frapotentsonline.com/epo325643.html>

## الملخص:

تتميز الكائنات الدقيقة المحبة للحرارة بنمو مثالي في وسط تتراوح حرارته بين 45-100 °م و تتمثل هذه الكائنات أساسا في البكتيريا الأرشيا و الفطريات و يتم عزلها من الأوساط الحارة الأرضية منها و البحرية و تتميز مركباتها الخلوية عموما بالتأقلم مع درجات الحرارة العالية حيث تظهر نشاطا معتبرا.

الإنزيمات المنتجة من قبل هذه الكائنات تعرف بتخصص كبير، و لهذا فهي تمتلك إمكانيات هامة تؤهلها لتأدية أدوار بارزة في الميدان الصناعي و البيوتكنولوجي، هذه الإنزيمات يمكن إنتاجها إما عن طريق التخمير أو الإدماج الوراثي في خلايا مضيفة ذات نمو سريع في درجات حرارة معتدلة.

## الكلمات المفتاحية:

الكائنات الدقيقة المحبة للحرارة، البيئات الحارة، الثبات الحراري، التطبيقات البيوتكنولوجية، الإنزيمات الثابتة حراريا، الإدماج والتعبير الوراثي.

## Abstract:

Thermophiles and hyperthermophiles grow optimally at temperatures between 45 and 100°C. They are represented by bacterial, archaeal and fungal species. These organisms have been isolated from all types of terrestrial and marine hot environments. Cellular components of thermophilic organisms are generally stable at high temperature and exhibit a high thermostability.

Thermostable enzymes from these microorganisms are highly specific and thus have considerable potential for many industrial and biotechnological applications. These enzymes can be produced through either fermentation or cloning and expression in a fast growing mesophilic host.

## Key words:

Thermophilic microorganisms, hot environments, thermostability, biotechnological applications, thermostables enzymes, cloning and expression.

## Résumé :

Les thermophiles et les hyperthermophiles poussent de façon optimale à des températures comprises entre 45-100 °C, elles sont représentées seulement par des espèces bactériennes, Archiennes et fongiques.

Ces microorganismes sont isolés de tous les environnements chauds terrestres et marins. Les composés cellulaires des microorganismes thermophiles sont généralement adaptés aux températures élevées et montrent une thermoactivité étonnante.

Les enzymes issus de ces microorganismes présentent une grande spécificité, c'est pour quoi elles ont un potentiel considérable pour plusieurs applications industrielles et biotechnologiques. Ces enzymes peuvent être produites par fermentation ou par le clonage et l'expression dans des hôtes mésophiles à croissance rapide.

## Mots clés:

Microorganismes thermophiles, environnements chauds, thermostabilité, applications biotechnologiques, enzymes thermostables, clonage et expression.