

# De nouveaux biomatériaux à haute valeur ajoutée

**Le développement des biomatériaux à base de molécules biologiques connaît une forte expansion.** L'amélioration des connaissances des propriétés d'autoassemblage et de structuration des polypeptides, rend désormais possible l'utilisation de ces macromolécules pour fabriquer une grande variété de matériaux à haute valeur ajoutée sur des échelles pouvant aller du nanoscopique au macroscopique. **D'importants débouchés industriels s'annoncent vers des secteurs aussi variés que la papeterie, le textile ou encore la chimie verte.**

**P**endant longtemps, le terme « biomatériaux » n'a désigné que des matériaux **biocompatibles** avec l'organisme humain ou animal et produits par l'association des compétences de plusieurs disciplines telles la médecine, la biologie, la chimie et les sciences des matériaux. Mis en contact de façon temporaire ou permanente avec différents tissus, organes ou fluides d'êtres vivants, ces biomatériaux ont un but

diagnostique, préventif ou thérapeutique. Depuis quelques années, ce terme englobe également des matériaux issus de certaines **biotechnologies** et constitués de **polymères** d'origine naturelle ou non. Leur utilisation ne se limite donc plus au seul domaine médical mais s'étend désormais aux domaines de l'agroalimentaire, des sciences de la vie, du textile, du papier ou encore de la cosmétique.



Détermination des conditions expérimentales visant à optimiser les caractéristiques d'un biomatériau réalisé à partir de protéines.

## Des macromolécules biologiques au service des biomatériaux

Actuellement, les **molécules** naturelles fréquemment utilisées pour la fabrication de biomatériaux appartiennent à la catégorie des sucres.

- Par exemple, le chitosane est un produit dérivé de la chitine, composant de l'**exosquelette** d'**arthropodes** comme les crustacés ou de l'**endosquelette** des **céphalopodes**, famille dont font partie les calmars. Déjà utilisé dans la fabrication des lentilles de contacts, de produits cosmétiques ou diététiques, le chitosane pourrait bien trouver de nouvelles applications pour la régénération des tissus, l'**ostéogénèse**, ou même la vectorisation de molécules biologiquement actives.

Un autre sucre, l'acide hyaluronique, représente l'un des principaux composants de la **matrice extracellulaire** particulièrement adapté aux applications biomédicales concernant les tissus du corps dans lesquels il se trouve naturellement présent, comme la peau ou le cartilage. Industriellement, il est extrait de crêtes de coq ou produit par des bactéries génétiquement modifiées. Depuis quelques années, la médecine esthétique l'utilise notamment comme produit de comblement des rides ou pour les prothèses mammaires.

Les alginates, des **polysaccharides** obtenus à partir d'une famille d'algues brunes appelées laminaires, sont largement utilisés comme épaississants, gélifiants, émulsifiants et stabilisants dans de multiples produits industriels. On les retrouve ainsi dans les gelées alimentaires, les produits de beauté, les peintures et les encres d'imprimerie, mais également dans des produits plus spécifiques comme les moules utilisés pour les empreintes dentaires ou les effets spéciaux cinématographiques reproduisant certaines parties du corps humain.

- Les **polypeptides** font partie de matériaux déjà présents dans la nature, comme la nacre, la soie ou

encore la laine. Ils constituent une autre grande classe de **macromolécules** biologiques entrant également dans la fabrication de certains biomatériaux. Notamment, la gélatine, déjà très utilisée en industrie alimentaire, s'obtient par **hydrolyse** partielle d'un polypeptide utilisé depuis 8 000 ans comme colle, à savoir le collagène. Aujourd'hui, le collagène trouve également des applications dans l'industrie pharmaceutique, en cosmétique et en photographie.

Sur le plan moléculaire, les polypeptides sont des polymères d'acides aminés. Un acide aminé est une chaîne **carbonée** qui possède une fonction amine ( $\text{NH}_2$ ) et une fonction acide **carboxylique** ( $\text{COOH}$ ) portées par le même carbone. Les deux dernières positions autour de ce carbone sont occupées par un **hydrogène** et par un groupement variable appelé chaîne latérale. Les propriétés de ces chaînes latérales permettent de classer les acides aminés en quatre groupes : acide, basique, **hydrophile** et **hydrophobe**. Au sein des polypeptides, les acides aminés sont reliés entre eux par des liaisons peptidiques. Il s'agit de **liaisons covalentes** entre le carbone du groupe carboxyle d'un acide aminé et l'**azote** du groupe amine de l'acide aminé adjacent. Le nombre et l'ordre des acides aminés dans la chaîne déterminent les caractéristiques structurales et fonctionnelles du polypeptide formé. Il existe plus d'une centaine d'acides aminés dans la nature mais seulement une vingtaine entrent dans la composition des polypeptides naturels. En général, on parle de **peptide** et de polypeptide lorsque la taille de la chaîne

n'excède pas une cinquantaine d'acides aminés et, au-delà, on parle de **protéines** qui peuvent dépasser le millier d'acides aminés.

Les protéines représentent la moitié du poids sec des organismes vivants et participent à une multitude de fonctions : la **catalyse** des réactions chimiques du **métabolisme**, le transport de métabolites, la communication au sein de l'organisme (notamment avec certaines hormones), la capacité du système immunitaire à reconnaître et discriminer le soi (molécules propres à l'individu) du non-soi (molécules étrangères), la mobilité cellulaire (**flagelles**, contraction musculaire) ou encore la structure des tissus et des cellules (collagène et **cytosquelette**). Pour accomplir leurs fonctions biologiques, les protéines doivent se replier et acquérir une structure tridimensionnelle stable (figure 1). Cette structuration, appelée « réaction de repliement des protéines » est un phénomène spontané. Les mécanismes de cette réaction sont encore largement incompris et font toujours l'objet d'études intensives à la frontière entre la biologie, la chimie et la physique.

Alors que les peptides sont plutôt synthétisés chimiquement, les protéines peuvent être extraites en grandes quantités, de produits naturels (végétaux, viande, lait...) ou être produites par **biotechnologies** à l'aide d'organismes génétiquement modifiés (comme des bactéries ou des levures...). Cette dernière approche a ouvert aux chercheurs la voie de l'ingénierie des protéines qui correspond à la modification

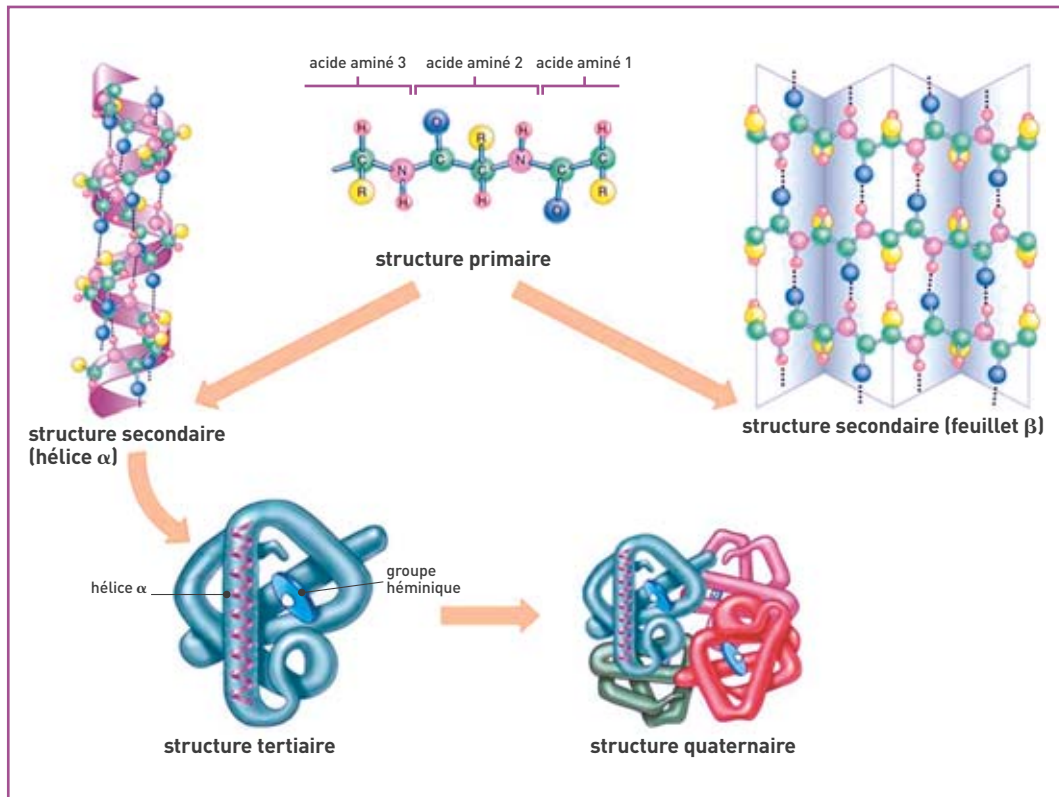


Figure 1. Structure des protéines. La structure primaire est la séquence en acides aminés du polypeptide. Elle peut varier de quelques acides aminés pour les peptides à plus d'un millier pour une protéine. Les acides aminés sont reliés par des liaisons peptidiques et se distinguent par leurs chaînes latérales (notées R). Un premier niveau de structuration correspond à la formation de structures secondaires établies selon un réseau de liaisons hydrogènes entre les liaisons peptidiques. La position de ces liaisons permet de stabiliser la structure en hélice  $\alpha$  ou en feuillet  $\beta$ . La structure tertiaire est la structure tridimensionnelle de la protéine ; c'est l'état fonctionnel de la grande majorité des protéines. L'agencement des structures secondaires au sein de la structure tertiaire est stabilisé par un réseau d'interactions étroites entre les chaînes latérales des acides aminés. Les protéines repliées peuvent encore s'assembler dans une structure quaternaire.

The McGraw-Hill Companies, Inc.

d'une séquence naturelle en acides aminés. Ceci permet la production d'une nouvelle protéine qui présente une fonction ou des propriétés interfaciales différentes par rapport à la protéine originelle. À l'échelle industrielle, ces techniques de biotechnologies sont surtout utilisées par l'industrie pharmaceutique en demande de protéines d'intérêts thérapeutiques telles que l'**insuline** pour le traitement du diabète ou les **anticorps monoclonaux** pour la fabrication de vaccins. Aujourd'hui, chercheurs et industriels envisagent d'y recourir pour obtenir des protéines destinées à la fabrication de matériaux à haute valeur ajoutée – parmi les exemples les plus célèbres, les essais de production des protéines de soies d'araignée.

### Les biopolymères, des molécules hautement organisées

Depuis plusieurs années maintenant, les matériaux basés sur des polypeptides font l'objet d'importantes recherches. Les propriétés d'autoassemblage de ces biopolymères sur des échelles allant du **nano** au macroscopique, les rendent particulièrement prometteurs pour l'approche **bottom-up** utilisée généralement dans le cadre de la conception de nanomatériaux. En effet, les interactions dans et entre les polypeptides sont toutes de faible énergie (liaisons hydrogène, ioniques, interactions hydrophobes et **forces de Van der Waals**), mais leur effet cumulatif au sein de structures ordonnées peut aboutir à des objets très stables. Actuellement, de nombreuses recherches portent sur l'utilisation de peptides de **synthèse** présentant des

propriétés spécifiques propices à l'autoassemblage supramoléculaire. Parmi les problèmes soulevés par cette technologie, le premier concerne l'impossibilité de synthétiser de nombreuses séquences en raison de leurs propriétés physicochimiques. D'autres ont trait à la production qui voit son rendement diminuer et son coût augmenter considérablement lorsque la longueur de la séquence en acides aminés s'allonge. Malgré ces difficultés, un certain nombre de matériaux à base de petits peptides et structurés à l'échelle du nanomètre ont déjà vu le jour – par exemple, sous la forme d'**hydrogels** destinés à la culture cellulaire en trois dimensions, au transport de molécules actives ou encore aux encres d'imprimerie.

Pour former des matériaux, l'autoassemblage de molécules peut également s'effectuer avec des protéines. La variété et la stabilité des structures qu'elles peuvent adopter permettent d'envisager une large palette de biomatériaux. Les protéines utilisées peuvent être issues de biotechnologies qui reposent sur la production de protéines **hétérologues** par des organismes génétiquement modifiés, comme cela est indiqué ci-dessus. Bien que le Laboratoire de chimie et de biologie des métaux maîtrise cette méthode de production des protéines, une autre stratégie s'appuyant sur l'isolement de protéines naturelles et disponibles en grandes quantités, est également mise en œuvre pour développer de nouveaux matériaux – par exemple, les protéines du **lactosérum**, longtemps considéré comme un simple déchet de l'industrie fromagère.

L'intérêt du lactosérum réside dans sa composition : un mélange hétérogène de protéines possédant une large gamme de propriétés fonctionnelles intéressantes pour les industries alimentaire, chimique, pharmaceutique et cosmétique. Les principales protéines de ce mélange incluent la  $\beta$ -lactoglobuline, l' $\alpha$ -lactalbumine, des **immunoglobulines**, la sérum albumine bovine et la lactoferrine. La multiplication des techniques de fractionnement et d'isolation de ces protéines a pu aboutir à la production de nombreux lactosérums enrichis présentant différentes, mais néanmoins excellentes, qualités nutritionnelles. Cette diversification a ainsi permis d'étendre leur utilisation comme compléments alimentaires des élevages à l'amélioration de la santé des personnes nécessitant des besoins nutritionnels spécifiques. De plus, les découvertes récentes d'un certain nombre d'activités biologiques attribuées aux protéines contenues dans le lactosérum, rendent également leur isolement particulièrement intéressant. Dans l'avenir, l'exploitation des protéines individuelles du lactosérum devrait permettre d'élargir la palette de ses débouchés potentiels et provoquer l'augmentation de sa valeur commerciale dans l'industrie laitière.

Selon les conditions, certaines protéines du lactosérum peuvent s'autoassembler pour former divers objets sur des échelles allant de la dizaine de nanomètres à quelques micromètres. L' $\alpha$ -lactalbumine illustre la diversité des objets pouvant être obtenus (figure 2). Par exemple, à haute température, celle-ci est capable d'interagir avec le lysozyme, une protéine du blanc d'œuf de poule, pour former des assemblages supramoléculaires à l'échelle du micromètre. Il s'agit de microsphères **porieuses** qui pourraient être utilisées, par exemple, pour la délivrance de molécules bioactives (figure 2, en haut à droite). Dans d'autres



P. Avellan / CEA

Préparation d'un échantillon pour une caractérisation préliminaire d'un biomatériau réalisé à partir de protéines.



P. Avavian / CEA

Suspension de protéines utilisées pour la réalisation de biomatériaux.

conditions, les molécules d' $\alpha$ -lactalbumine sont également capables de s'autoassembler pour aboutir à la formation de fibres de plusieurs centaines de nanomètres en longueur (figure 2, en haut à gauche). D'autres assemblages, sous forme de nanotubes, s'obtiennent à température élevée en traitant la protéine avec une protéase spécifique (figure 2, en bas à droite). L'intérêt de ces nanotubes réside dans leurs potentialités vraiment très diverses et dont la liste ne cesse de s'enrichir au fil des mois.

Les différents objets obtenus peuvent encore interagir et s'organiser dans des structures à des échelles plus importantes. Par exemple, en présence de liposomes, les fibres d' $\alpha$ -lactalbumine grandissent et peuvent atteindre  $1\ \mu\text{m}$  de largeur sur plusieurs dizaines de micromètres de longueur (figure 2, en bas à gauche). Également, les nanotubes obtenus par protéolyse partielle sont capables d'interagir et de s'organiser pour former des hydrogels.

### Les biomatériaux du futur

L'intérêt des matériaux à base de protéines naturelles réside principalement dans leur biodégradabilité mais aussi dans des procédés de fabrication réalisés avec des conditions modérées de solvant, de température et de pH, c'est-à-dire compatibles avec la chimie verte. Bien que l'utilisation du lactosérum

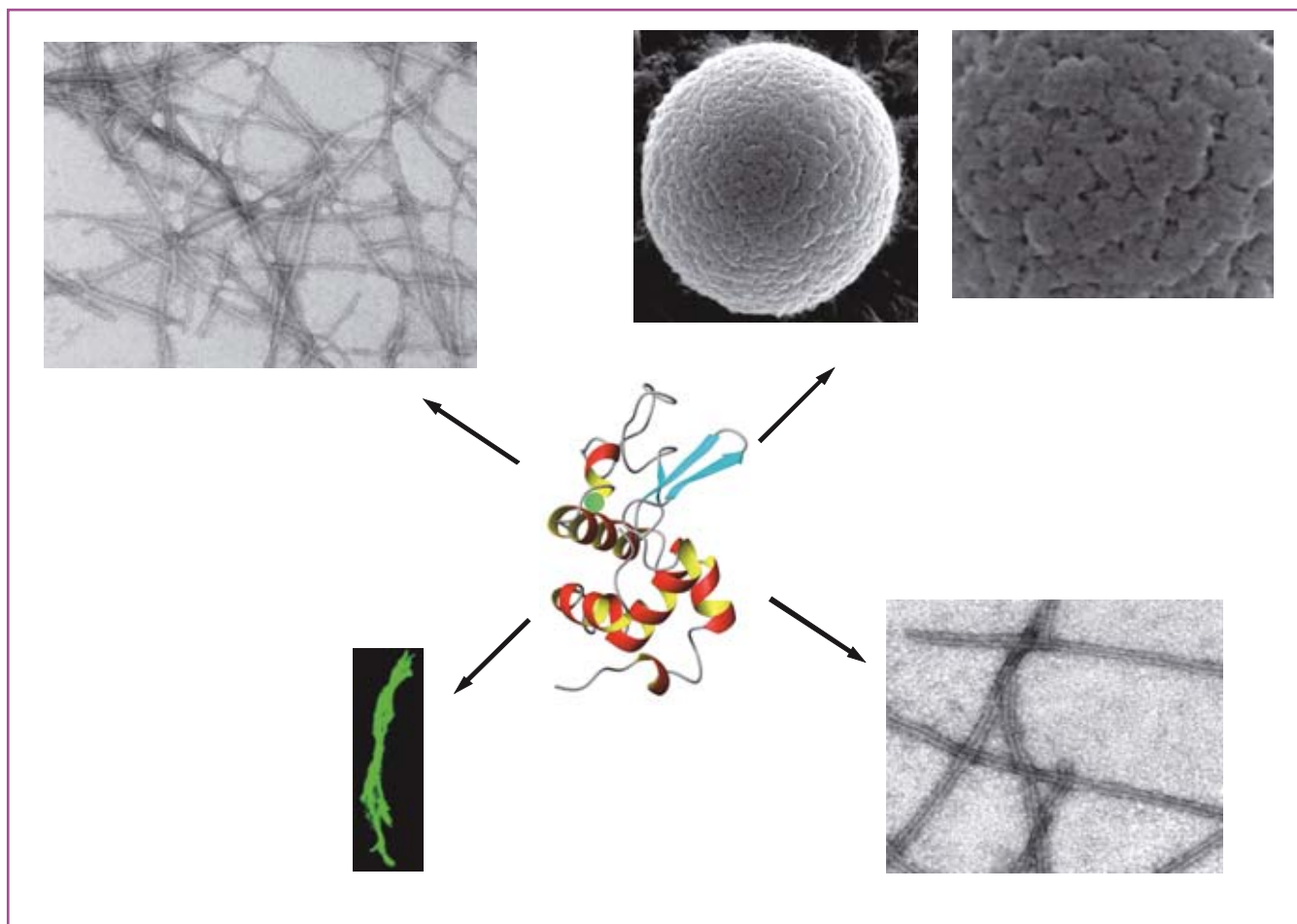


Figure 2. Variété de matériaux obtenus par autoassemblage d'une protéine. La topologie de la chaîne polypeptidique de l' $\alpha$ -lactalbumine est représentée au centre de la figure. Les chaînes latérales ne sont pas reportées. Les hélices  $\alpha$  sont colorées en rouge/jaune et le feuillet  $\beta$  en bleu. La sphère verte est un ion calcium fixé à la protéine. Les différents matériaux obtenus par auto-assemblage de cette protéine sont décrits dans le texte (adapté de la figure 6 de Nigen *et al.* FEBS J. 274(23) : 6085-6093 [2007] ; adapté de la figure 2 de Graveland-Bikker *et al.* Langmuir 20(16) : 6841-6846 [2004] ; adapté de la figure 3 de Zhao *et al.* Biochemistry 43(32) : 10302-10307 [2004]).

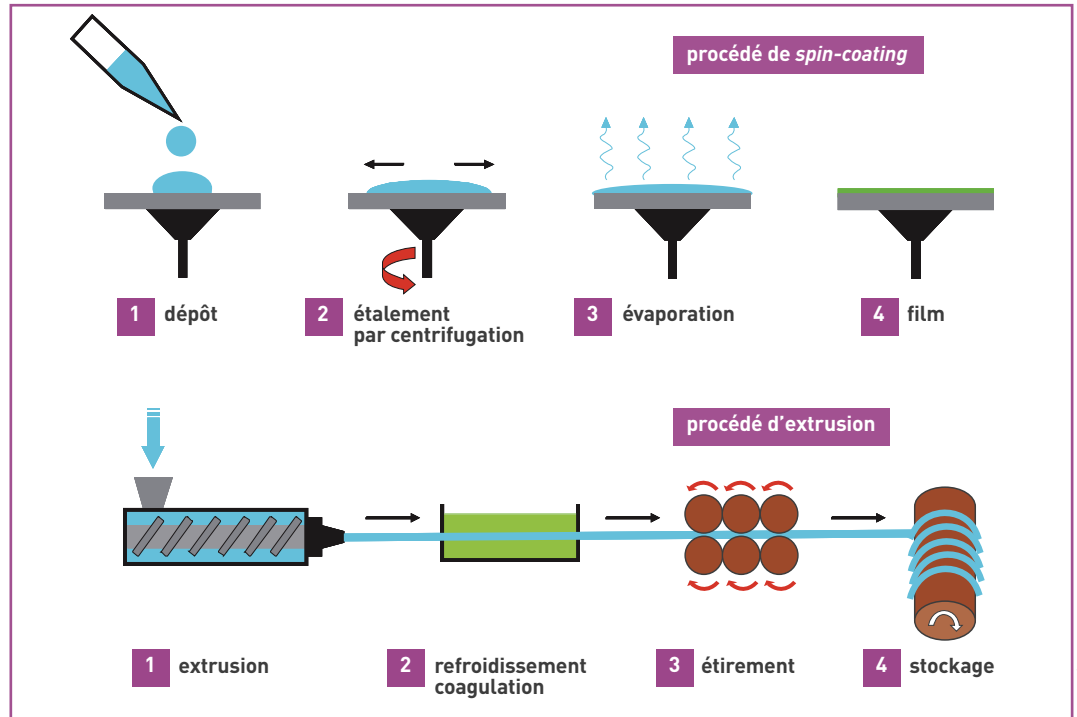


Figure 3. Procédés de fabrication de matériaux. Pour le *spin-coating*, la suspension d'objets est déposée au centre d'un plateau puis étalée par rotation contrôlée du plateau. Après évaporation, on obtient un film d'une épaisseur de l'ordre de la centaine de nanomètres. Le processus peut être répété plusieurs fois pour la fabrication d'un film multicouche. Pour l'extrusion, une suspension de concentration élevée est forcée, sous pression contrôlée, à traverser un orifice de faible diamètre (jusqu'à quelques micromètres) afin d'aboutir à la formation d'un fil. Le fil peut ensuite passer par un bain de refroidissement ou de changement de solvant avant de subir un étirement. Cette étape est parfois nécessaire pour induire un changement de conformation des polypeptides dans le fil; c'est le cas notamment pour la soie. Le fil obtenu est ensuite stocké sur un rouleau.

se développe dans l'agroalimentaire et la cosmétique, d'autres voies de valorisation restent à trouver. Par exemple, le secteur des papiers spéciaux exprime une forte demande en matière de nouveaux polymères biodégradables. Ainsi, le Laboratoire de chimie et biologie des métaux étudie les possibilités de remplacer, à terme, les plastiques en usage dans

l'industrie du luxe (par exemple, les étiquettes de bouteilles de champagne) ou ceux destinés à la sécurité publique (pour la fabrication des papiers d'identité notamment) ou encore à la sécurité alimentaire (traçabilité des marchandises et des aliments). Parmi les solutions envisagées figure la technique du *spin-coating* (figure 3) qui permet l'obtention de films d'une épaisseur de 100 à 200 nm. Cette méthode s'utilise couramment pour superposer les couches de différents films produits et permet ainsi la fabrication de **matériaux composites**.

Par ailleurs, avec l'essor des textiles techniques, les tendances actuelles du marché du textile poussent à la recherche de nouveaux types de fibres, de matériaux et de procédés de revêtement. Grâce au développement de la technique de l'extrusion, il devient désormais possible de produire des fils ne dépassant pas quelques microns d'épaisseur (figure 3).

Enfin, outre les domaines de la papeterie et du textile, les biomatériaux développés au Laboratoire de chimie et biologie des métaux trouveront également des applications dans des domaines aussi variés que ceux de la chimie verte ou des dispositifs médicaux.



Observation d'un échantillon de biomatériau protéique à la loupe binoculaire.

> **Carole Mathevon et Vincent Forge**

Laboratoire de chimie et biologie des métaux (LCBM) (UMR 5249 CEA/CNRS/UJF) Institut de recherches en technologies et sciences pour le vivant (iRTSV) Direction des sciences du vivant CEA Centre de Grenoble