



Sujet de thèse

Vers un modèle spatio-temporel de la croissance microbienne capable de prédire les basculements de métabolisme

Laboratoire d'accueil : LGPM, CentraleSupélec

Directeur de thèse : Prof. Patrick Perré (patrick.perre@centralesupelec.fr)

Co-encadrant : Dr. Cristian Puentes (cristian.puentes@centralesupelec.fr)

Début de la thèse : 1 octobre 2021

Date limite de candidature : 26 avril 2021

1 CONTEXTE

La modélisation de la croissance microbienne a fait l'objet de nombreux travaux. Depuis les travaux précurseurs de Tessier (1942) et de Monod (1942), la compréhension des mécanismes et leur modélisation n'a cessé de progresser (Trelea et al. 2001). Récemment, une équipe de l'INRAE a proposé un modèle basé sur la théorie de la transition d'état microbienne (Microbial Transition State theory ; Desmond-Le Quéméner et Bouchez, 2014). Ce modèle a comme énorme avantage sa capacité prédictive avec très peu de paramètres à identifier. Dans sa version actuelle, il ne permet cependant pas de considérer des voies alternatives pour obtenir la même ressource, par exemple des molécules d'ATP, à partir de photons ou de substrats, dans le cas de micro-algues capables de réaliser un métabolisme autotrophe ou hétérotrophe.

Notre équipe a très récemment proposé un modèle de croissance de levures basé sur les bilans de matière (bilans stœchiométriques), d'énergie et de transporteurs d'électrons (La et al. 2020 ; Fig. 1). Avec assez peu de paramètres à déterminer, ce modèle de croissance est capable de prédire des voies métaboliques en fonction des conditions de croissance. Ce travail de thèse propose d'étendre ce modèle au cas de microorganismes photosynthétiques. Des cultures immobilisées seront choisies comme expérience pour développer ces modèles. En effet, pour les organismes photosynthétiques en particulier, les cultures immobilisées permettent d'obtenir des gradients spatiaux stables des conditions de croissance.

2 TRAVAIL PROPOSE

2.1 FORMULATION

Un travail bibliographique sera mené en début de thèse afin de proposer une formulation des voies métaboliques possibles pour des micro-algues, en prenant à la fois les voies de croissance autotrophe et celles de croissance hétérotrophe.

Ce travail permettra de proposer une formulation de ces voies métaboliques sous la forme d'une série d'équations différentielles ordinaires. Le modèle "levure" existant (pour *Saccharomyces cerevisiae*), développé sur la plateforme R, sera adapté pour implémenter la nouvelle formulation.

Des essais de simulation seront effectués pour tester le modèle et appréhender l'effet des principaux paramètres. Tous les paramètres stœchiométriques viendront de la littérature, ainsi que les valeurs publiées pour les paramètres cinétiques disponibles.

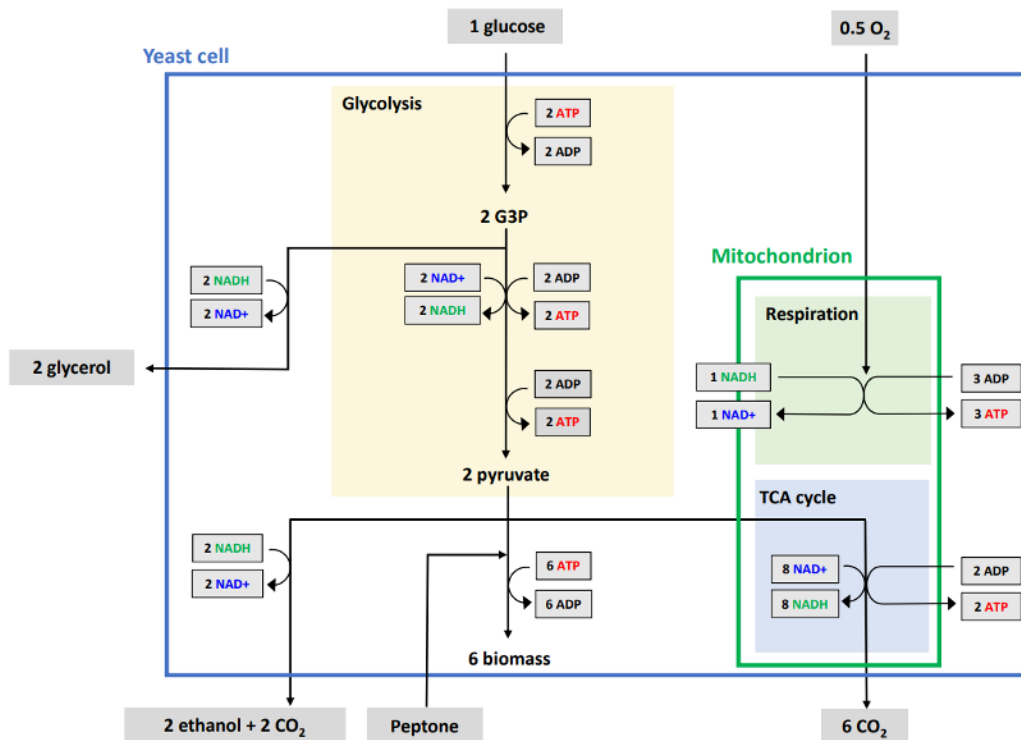


Fig. 1. Schéma illustrant les voies métaboliques de la levure considérées dans l'article La et al. 2020.

2.2 SIMULATION NUMÉRIQUE

Dans le travail de thèse proposé, la synergie entre expérimentation et modélisation sera très structurante. Cela nécessite de résoudre les formulations proposées afin d'obtenir des simulations pouvant être confrontées aux expériences. La configuration des cultures immobilisées nécessite de calculer des champs spatio-temporels du développement cellulaire d'une part et de son interaction avec les conditions de croissance, elles-mêmes fonction du temps et de l'espace (Fig. 2).

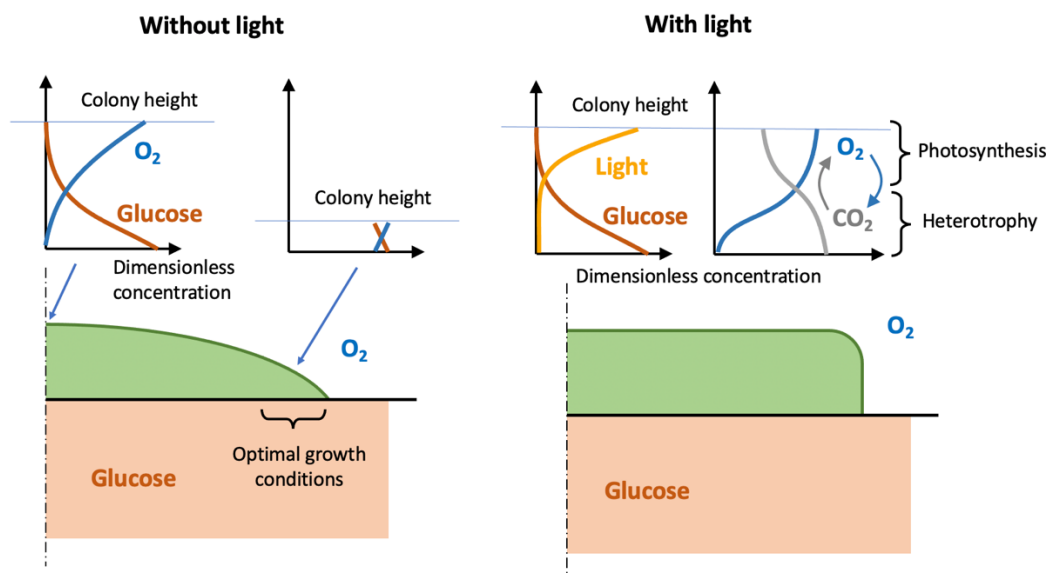


Fig. 2. Structuration spatiale d'une colonie de microalgues en présence ou en absence de lumière, déduite de suivis expérimentaux de colonies, avec suivi en rayon, hauteur et bilans de gaz (Zhang and Perré, 2020).

Une résolution 1D sera développée comme première approche. Cela permet de rester sur des algorithmes assez simples et rapides à résoudre sur une plateforme classique de programmation (par exemple Matlab ou R). En cours de thèse et en fonction de l'appétence du doctorant pour le calcul numérique, une solution 2D axisymétrique pourrait être envisagée.

2.3 EXPERIMENTATIONS EN CULTURES IMMOBILISEES

Le modèle "micro-algue" sera alimenté par des essais en culture immobilisée sur substrat. La souche utilisée sera probablement *Chlorella vulgaris*, une algue très étudiée au LGPM.

Le laboratoire dispose de dispositifs permettant de suivre le développement de cultures avec un microscope à lumière structurée et traitement d'image tout en faisant le bilan des gaz produits/consommés (O₂ et CO₂) (Zhang et al. 2019 ; Zhang and Perré, 2020). Des cultures à plusieurs niveaux d'éclairage, y compris en l'absence de lumière, seront menées afin de déterminer les paramètres du modèle.

Des cultures en conditions très différentes, y compris à conditions variables en cours de culture, seront également programmées afin de tester le caractère prédictif du modèle, notamment son aptitude à basculer entre croissance autotrophe et croissance hétérotrophe. Le niveau de nutriment dans le substrat sera aussi un paramètre intéressant à varier.

2.4 APPLICATION AUX CULTURES MIXTES LEVURE/MICROALGUES

Les cultures mixtes de levure et de micro-algues ont pour principal intérêt une meilleure utilisation du carbone. En effet, la présence de microorganismes photosynthétique dans le même réacteur que les levures permet de recycler le CO₂ émis lors de la fermentation comme source de carbone pour la photosynthèse (La et al. 2019). Le contrôle de ces cultures mixtes, notamment le maintien d'un équilibre permettant d'assurer cette synergie, n'est cependant pas simple pour plusieurs raisons :

- Le taux de croissance de ces deux microorganismes est très contrasté,
- Le pH optimal est différent,
- Le substrat nécessaire aux levures permet aux micro-algues de basculer en croissance hétérotrophe,
- Les carences en oligoéléments peuvent s'exprimer de façon très différente pour les deux microorganismes.

Dans cette dernière partie de la thèse, les deux modèles (levure et micro-algue) seront couplés de façon à simuler des cultures mixtes immobilisées dans plusieurs conditions de croissance. Cela permettra dans un premier temps de tester des effets pris en compte directement par ces modèles : partage du substrat, différence du taux de croissance, échanges gazeux (O₂ et CO₂), stratification spatiale au sein de la colonie, entre autres. En comparant les prédictions du couplage entre les deux modèles à des essais expérimentaux de cultures mixtes, des conclusions seront tirées sur les mécanismes bien représentés et ceux qui échappent au simple couplage des modèles. Cela peut ouvrir de nouvelles pistes de réflexion.

3 PROFIL SOUHAITE

- Formation en génie des procédés ou bioprocédés, attiré par les biotechnologies.
- Niveau élève ingénieur en dernière année ou master M2.
- Fort intérêt pour la modélisation.
- Savoir-faire en programmation.
- Nous recherchons un candidat curieux, autonome, dynamique et rigoureux. Une bonne maîtrise de l'anglais est essentielle. De bonnes capacités relationnelles sont aussi demandées pour une intégration rapide aux laboratoires.

4 REFERENCES

- Desmond-Le Quéméner, E., Bouchez, T. 2014 - A thermodynamic theory of microbial growth. *The ISME journal*, 8, 1747.
- La A., Du H., Taïdi B., Perré P., 2020 - A predictive dynamic yeast model based on component, energy, and electron carrier balance, *Biotechnology and Bioengineering*, 117: 2728-2740.
- La, A., Perré, P., Taïdi, B. 2019 - Process for symbiotic culture of *Saccharomyces cerevisiae* and *Chlorella vulgaris* for in situ CO₂ mitigation. *Applied Microbiology and Biotechnology* 103, 731–745.
- Monod J. 1942 - Recherches sur la croissance des cultures bactériennes. Hermann.
- Tessier G. 1942 - Croissance des populations bactériennes et quantité d'aliment disponible. *Rev. Sci. Paris*, 3208 : 209-214.
- Trelea I. C., Titica M., Landaud S., Latrille E., Corrieu G., Cheruy A. 2001 - Predictive modelling of brewing fermentation: from knowledge-based to black-box models. *Mathematics and Computers in Simulation*, 56(4-5), 405-424.
- Zhang J., Tran T., Taïdi B., Lu P., Perré P., 2020 - *Chlorella vulgaris* heterotrophic colony development and interaction, *Algal Research*, 49, 101907.
- Zhang J., Perré P., 2020 - Gas production reveals the metabolism of immobilized *Chlorella vulgaris* during different trophic modes, *Bioresource Technology*, 315: 123842.