



**HAL**  
open science

## Métatranscriptomique et modèle métabolique pour identifier la succession des métabolismes bactériens en interaction lors de la fabrication d'un fromage modèle à pâte pressée.

Wenfan Cao, Maxime Lecomte, Solène Le Fur, Julie J. Aubert, Marie-Bernadette Maillard, Aurélie Nicolas, Stéphanie-Marie Deutsch, Sandrine Parayre, Françoise Boissel, Arlette Leduc, et al.

### ► To cite this version:

Wenfan Cao, Maxime Lecomte, Solène Le Fur, Julie J. Aubert, Marie-Bernadette Maillard, et al.. Métatranscriptomique et modèle métabolique pour identifier la succession des métabolismes bactériens en interaction lors de la fabrication d'un fromage modèle à pâte pressée.. 23ème édition du colloque du Club des Bactéries Lactiques, UMR INRAE - Institut Agro STLO (Science et Technologie du Lait et de l'Œuf), Jun 2022, Rennes, France. hal-03694338

**HAL Id: hal-03694338**

**<https://hal.inrae.fr/hal-03694338>**

Submitted on 13 Jun 2022

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

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



Distributed under a Creative Commons Attribution - NonCommercial - NoDerivatives 4.0 International License

- 
- Méatranscriptomique et modèle métabolique pour identifier la succession des métabolismes bactériens en interaction lors de la fabrication d'un fromage modèle à pâte pressée.

Hélène Falentin – URM STLO – RENNES



INRAE



STLO

Inria

Financé par



## > Contexte et questions



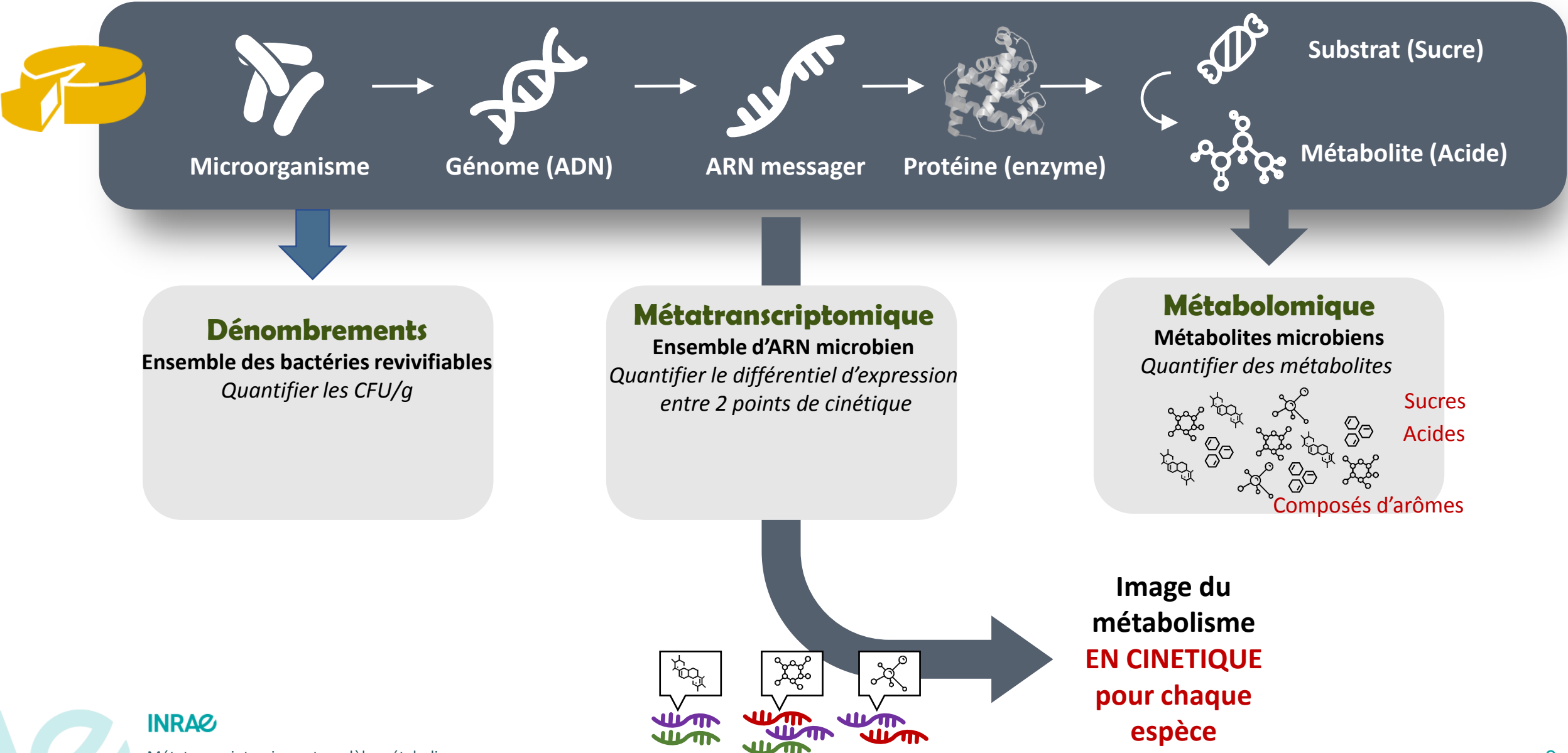
### Contexte

- Un écosystème fromager
- Succession de plusieurs espèces au cours de la fabrication
- Plusieurs métabolismes +/- spécifiques en œuvre
- En interaction métabolique
- Qualité du fromage dépend des interactions métaboliques entre espèces

### Questions scientifiques

- Quelles espèces contribuent à acidifier ?
- A produire des composés d'arôme ?
- Selon quelles voies métaboliques ?
- Avec quelle temporalité ?
- **Quelles interactions métaboliques bactériennes contribuent au fonctionnement de l'écosystème fromager ?**

# > Stratégie



## Dénombrements

Ensemble des bactéries revivifiables  
Quantifier les CFU/g

## Métatranscriptomique

Ensemble d'ARN microbien  
Quantifier le différentiel d'expression  
entre 2 points de cinétique

## Métabolomique

Métabolites microbiens  
Quantifier des métabolites

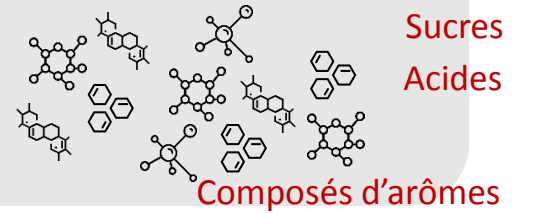
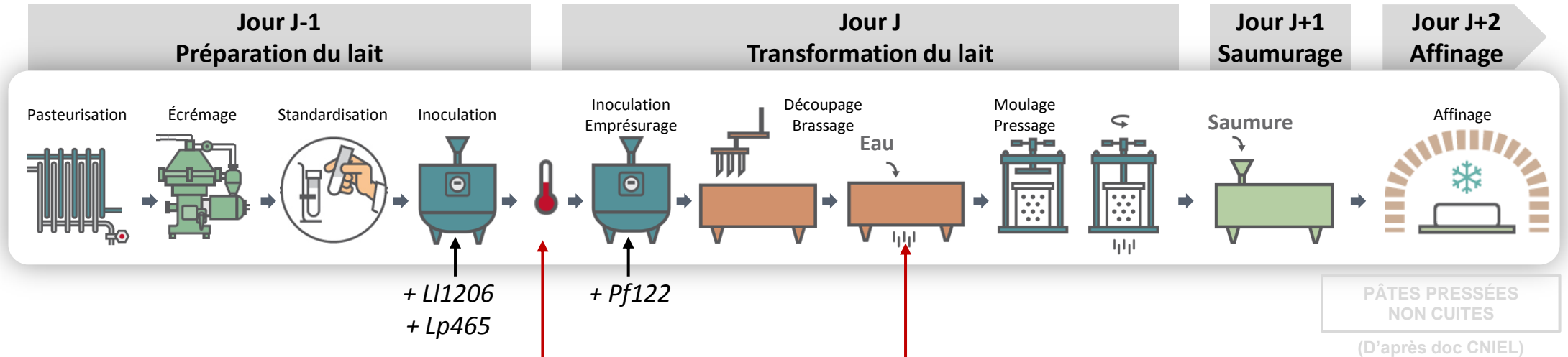


Image du métabolisme  
**EN CINÉTIQUE**  
pour chaque espèce

# ➤ Fabrications fromagères en conditions contrôlées



Prématuration  
(18 h – 14 °C)

Délactosage 25 %  
25 % lactosérum → eau

Fromage modèle :  
**Pâte pressée non cuite**  
à 3 espèces bactériennes  
(sans levure)

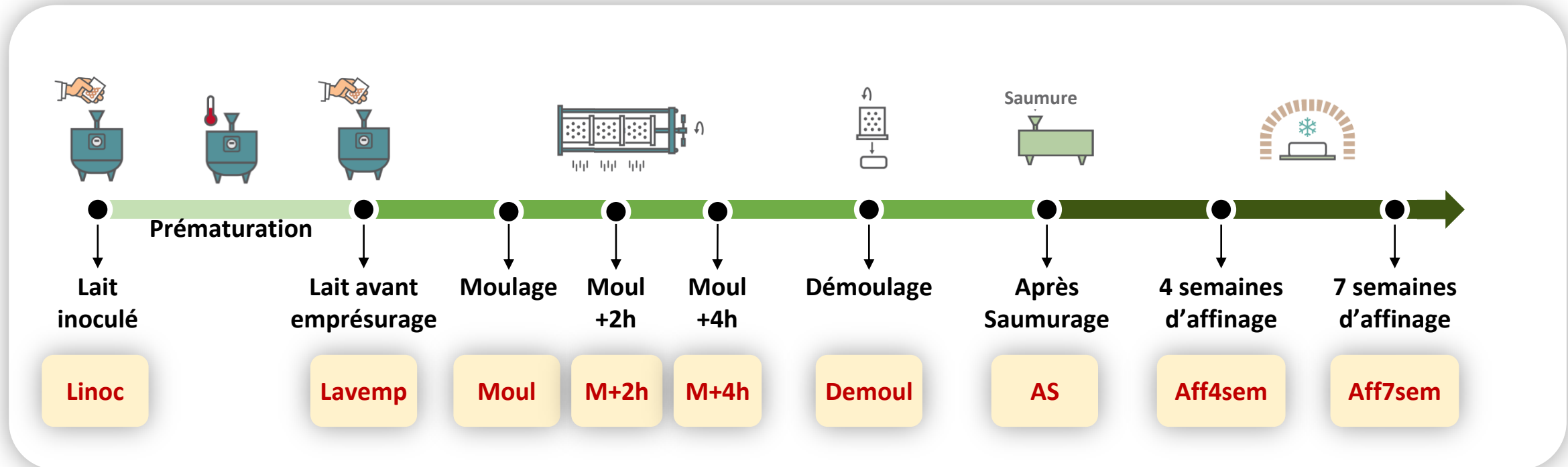
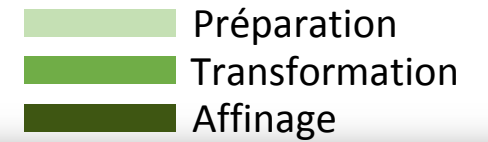


- Lactococcus lactis** CIRM-BIA1206
- Lactobacillus plantarum** CIRM-BIA465
- Propionibacterium freudenreichii** CIRM-BIA122

Cao et al. 2021, J. Agric. Food Chem.



## ➤ Analyses en cinétique



Microbiologie

Physico-chimie

Biochimie

Biologie  
moléculaire

Bioinformatique

## ➤ Matériel et méthodes

### Microbiologie

- *L. lactis* : M17 + lactose
- *L. plantarum* : MRS pH5.4
- *P. freudenreichii* : Yela

### Biochimie

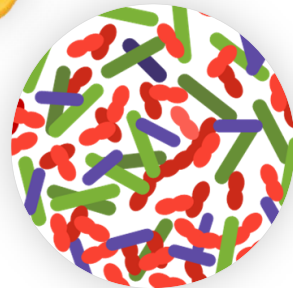
- **Matière azotée** : Kjeldhal
- **Sucres & Acides organiques** : HPLC
- **Composés volatils** : head space + GCMS

### Biologie moléculaire

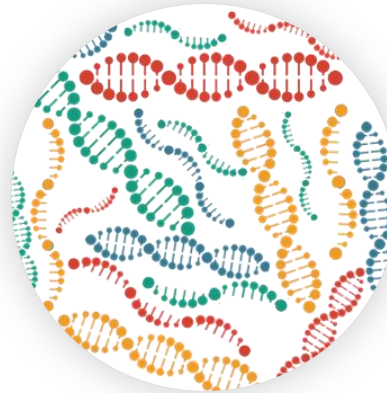
- **ADN** : Dneasy Tissue kit
- **ARN** : QIAzol + Rneasy mini kit
- **Contrôle qualité** : Nanodrop, Qubit, Bioanalyzer
- **Séquençage** : Illumina pairé, PacBio



Fromage



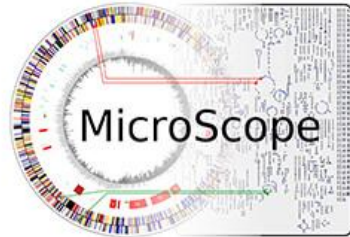
Microorganismes



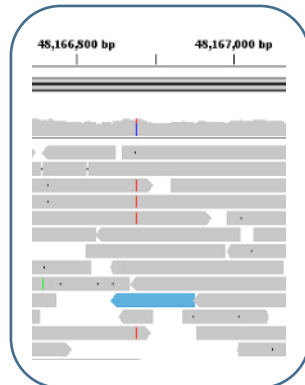
ADNs & ARNs microbiens

## ➤ Matériel et méthodes

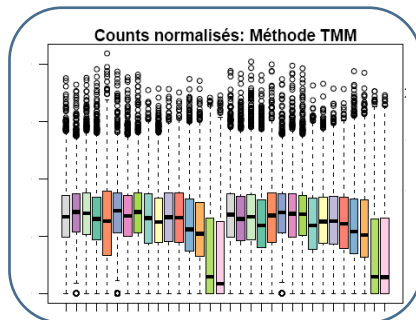
### Bio-informatique



Annotation automatique de génomes  
Reconstruction de voies métaboliques



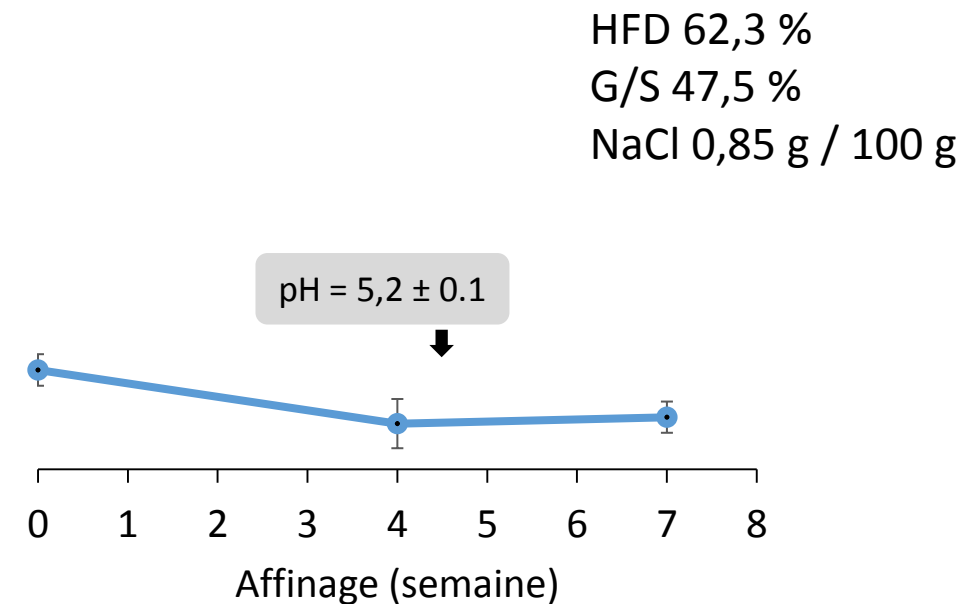
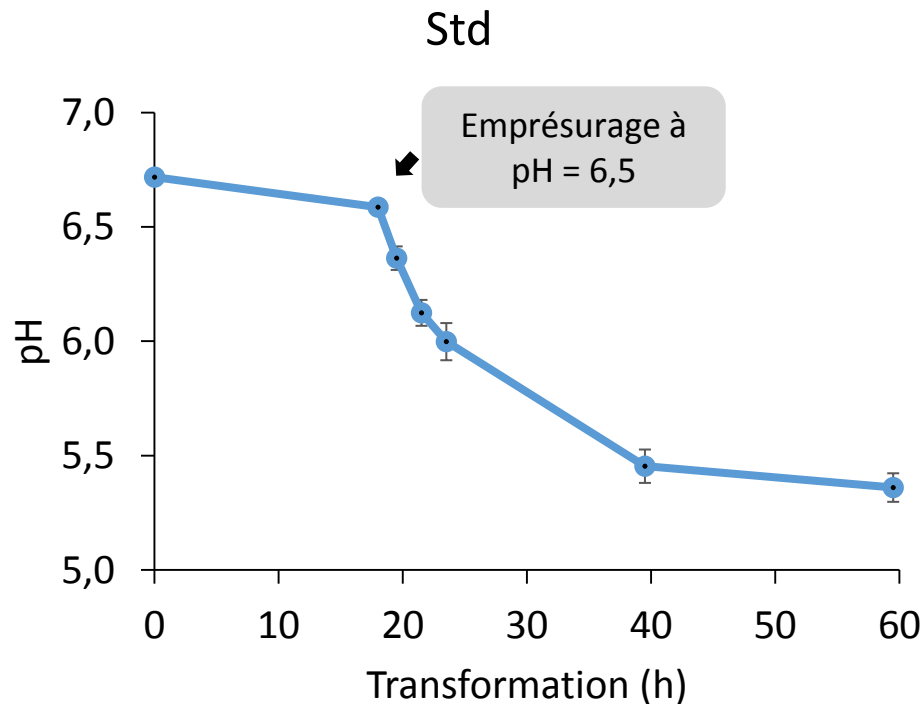
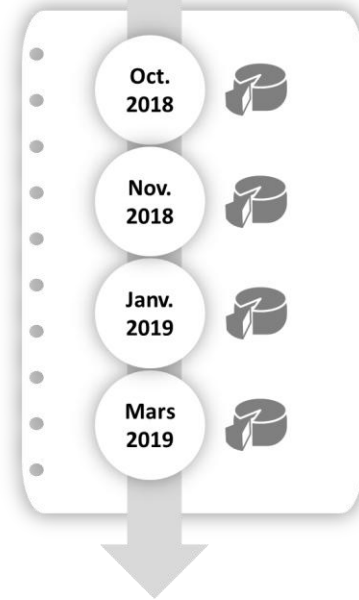
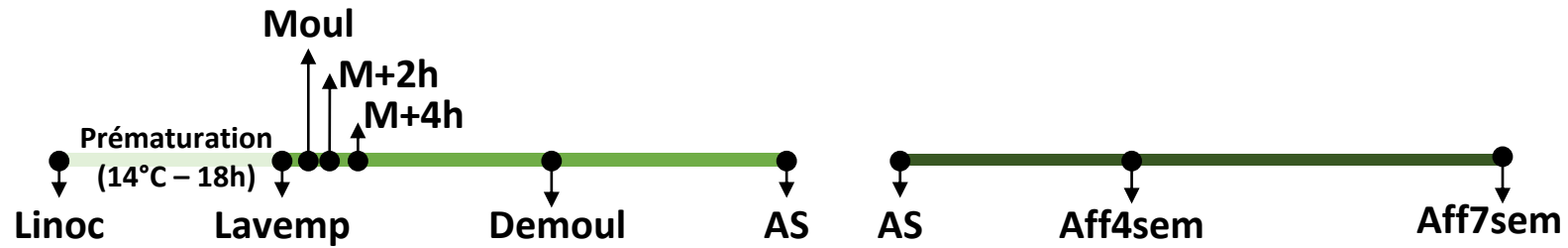
Métatranscriptome  
Alignement des reads / génome avec Bowtie  
Comptage des reads avec htseq count



Normalisation avec TMM multi espèces  
Identification des gènes différentiellement exprimés avec EdgeR  
Résultats significatifs p-valeur ajustée < 0,05



## ➤ Fromages modèles répétables (X4)



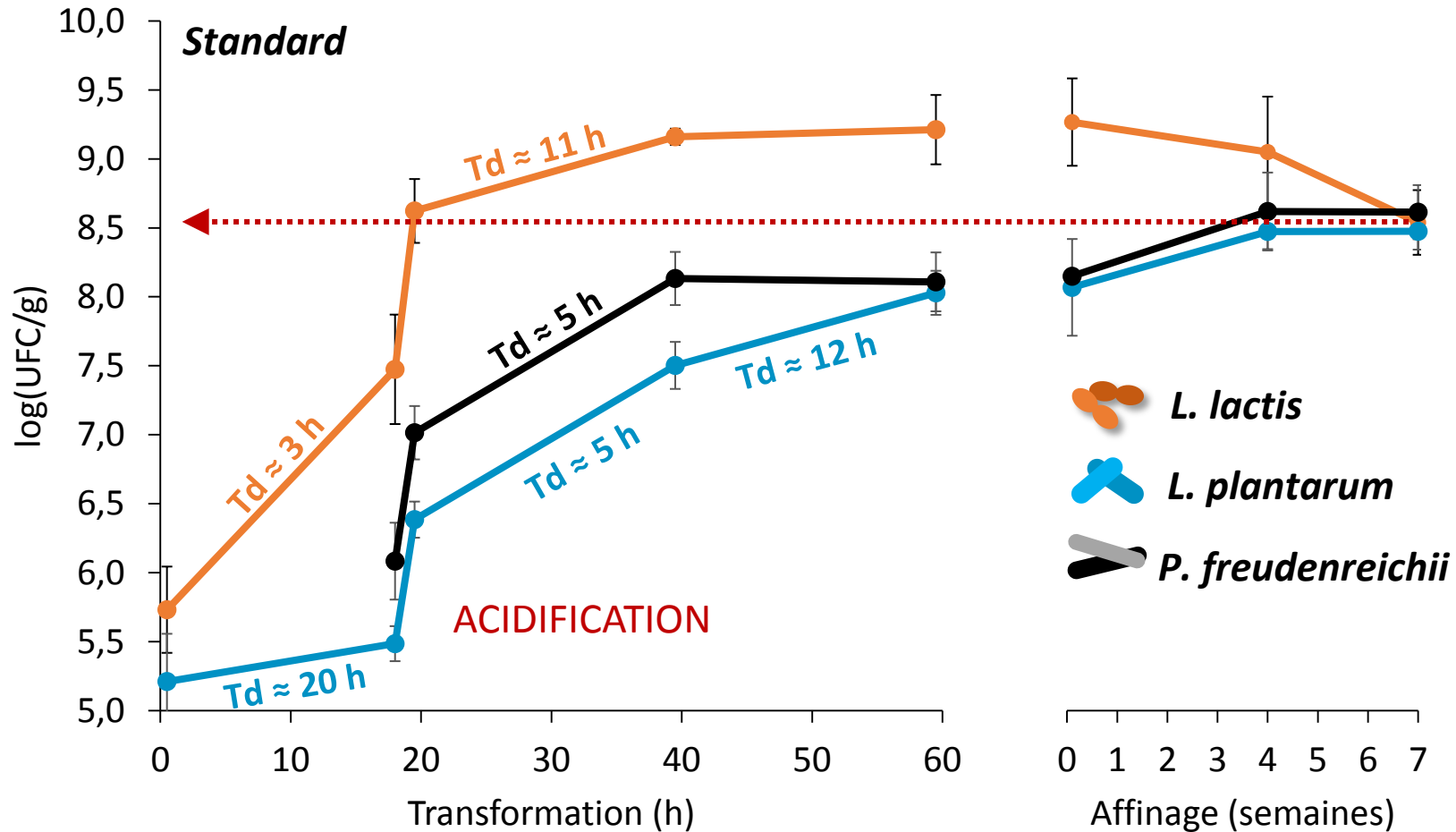
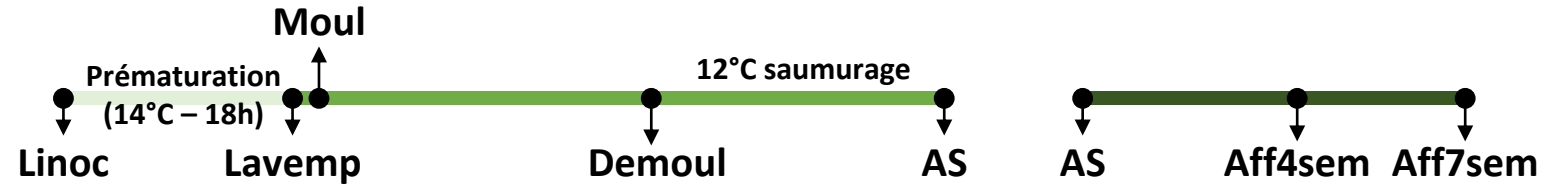
HFD 62,3 %  
G/S 47,5 %  
NaCl 0,85 g / 100 g



INRAE

Métatranscriptomique et modèle métabolique  
1à juin 2022 / H. Falentin

# ➤ Croissance bactérienne lactique et propionique



UFC : unité formant colonie

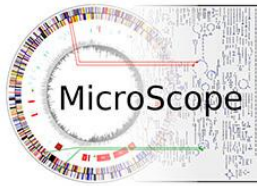
Td : temps de doublement de la population



INRAE

Métatranscriptomique et modèle métabolique  
1à juin 2022 / H. Falentin

Cao et al. 2021, J. Agric. Food Chem.



## ➤ Assemblage et annotation de souches isolées

### *L. lactis* 1206

Replicon	Seq length	% GC	CDS	tRNA	rRNA
Chromosome	2 365 039	35,34	2417	62	19
plasmid 1	59 643	34,85	67	0	0
plasmid 2	36 823	34,41	42	0	0
plasmid 3	8 277	34,81	12	0	0
plasmid 4	8 243	30,60	8	0	0
plasmid 5	4 632	36,25	5	0	0
plasmid 6	3 597	33,28	2	0	0
plasmid 7	2 119	34,21	3	0	0

### *L. plantarum* 465

Chromosome	3 121 980	44,72	3016	67	16
plasmid 1	40 748	39,81	40	0	0
plasmid 2	30 463	41,80	27	0	0
plasmid 3	9 152	36,21	13	0	0
plasmid 4	2 012	37,87	2	0	0

### *P. freudenreichii*

Chromosome	2 688 484	67,21	2589	45	6
------------	-----------	-------	------	----	---

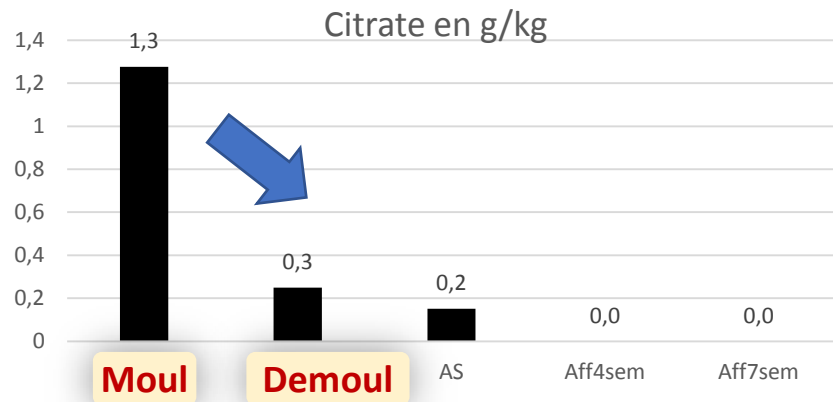


Métatranscriptomique : alignement des séquences d'ARN / génomes



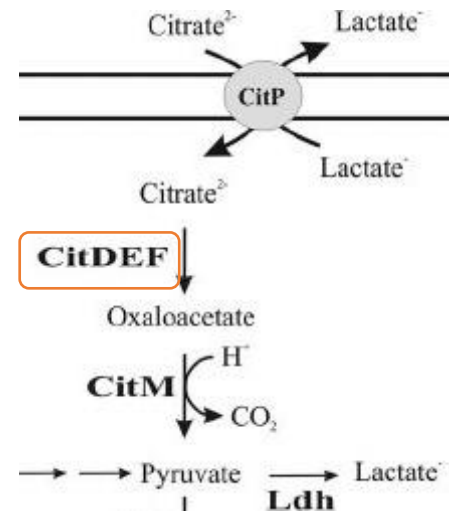
# ➤ Consommation du citrate par *Lc. lactis*

Moulage > Démoulage



*citP*  
LPLABIA1206\_v1\_pc0002

*citCDEFG*  
LLACBIA1206\_v1\_1311-1316



Induction logFC X4  
chez *L. lactis*

LLACBIA1206\_v1\_pc0002  
LLACBIA1206\_v1\_1007

Induction logFC X 2-3  
chez *L. lactis*

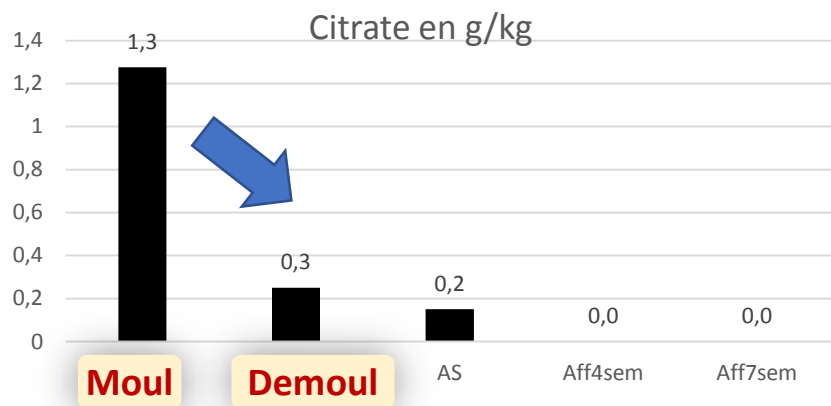
Garcia-Quintas et al. 2008, AEM



INRAE

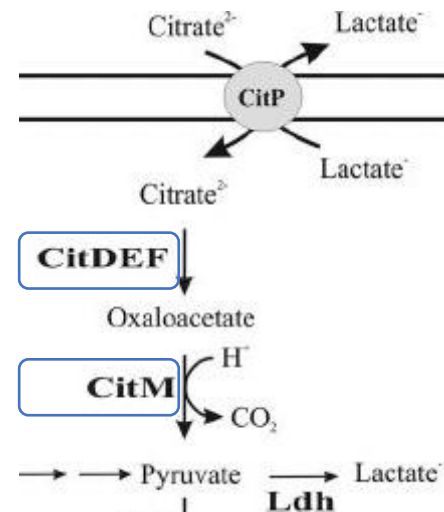
Métatranscriptomique et modèle métabolique  
1à juin 2022 / H. Falentin

## ➤ Consommation du citrate par *L. plantarum*



LPLABIA465\_v1\_0482

*citMCDEF*  
LPLABIA465\_v1\_0962-0966



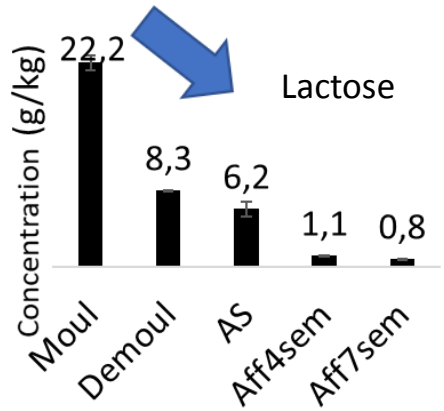
Induction logFC X15  
chez *L. plantarum*

Induction logFC X13-  
16 chez *L. plantarum*

➔ **Compétition**  
Redondance fonctionnelle en utilisant la même voie  
chez *L. lactis* et *L. plantarum*

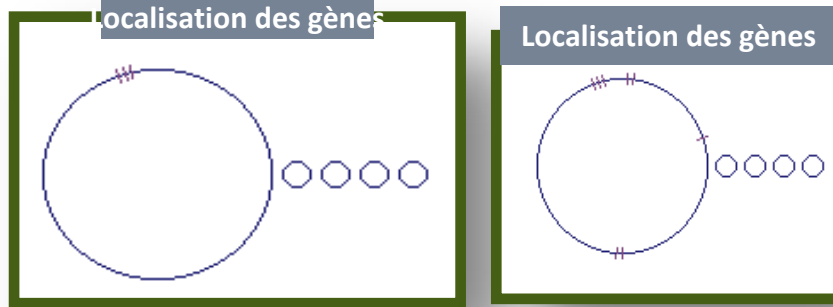
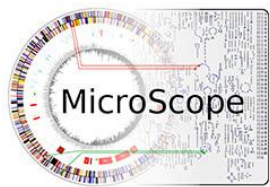
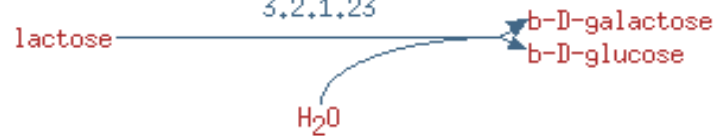
# ➤ Dégradation du lactose chez *L. plantarum*

Moulage > Démoulage

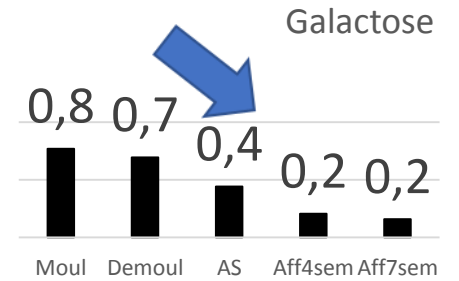
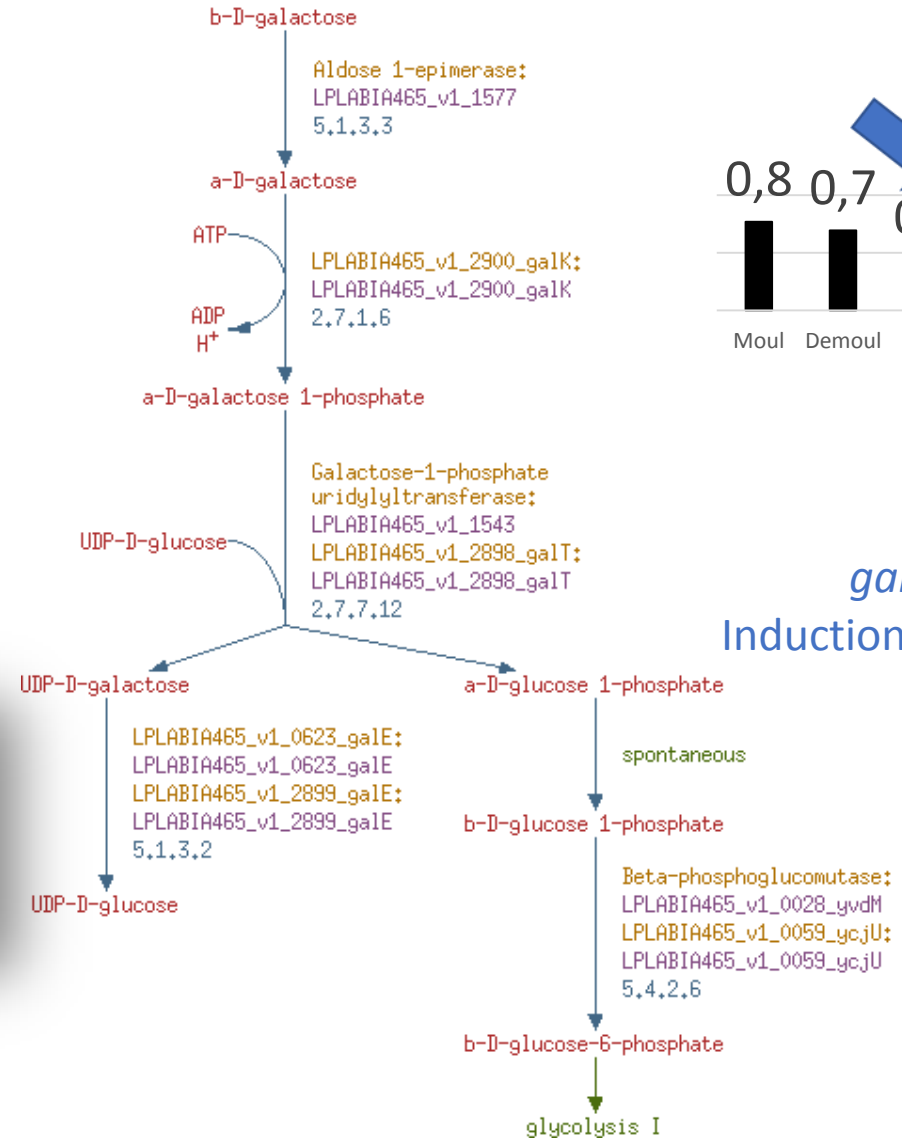


*lacLM*  
Induction logFC X 6-7

LPLABIA465\_v1\_2888\_ganA;  
LPLABIA465\_v1\_2888\_ganA  
Beta-galactosidase;  
LPLABIA465\_v1\_2901\_lacL  
Beta-galactosidase;  
LPLABIA465\_v1\_2902\_lacM  
3.2.1.23

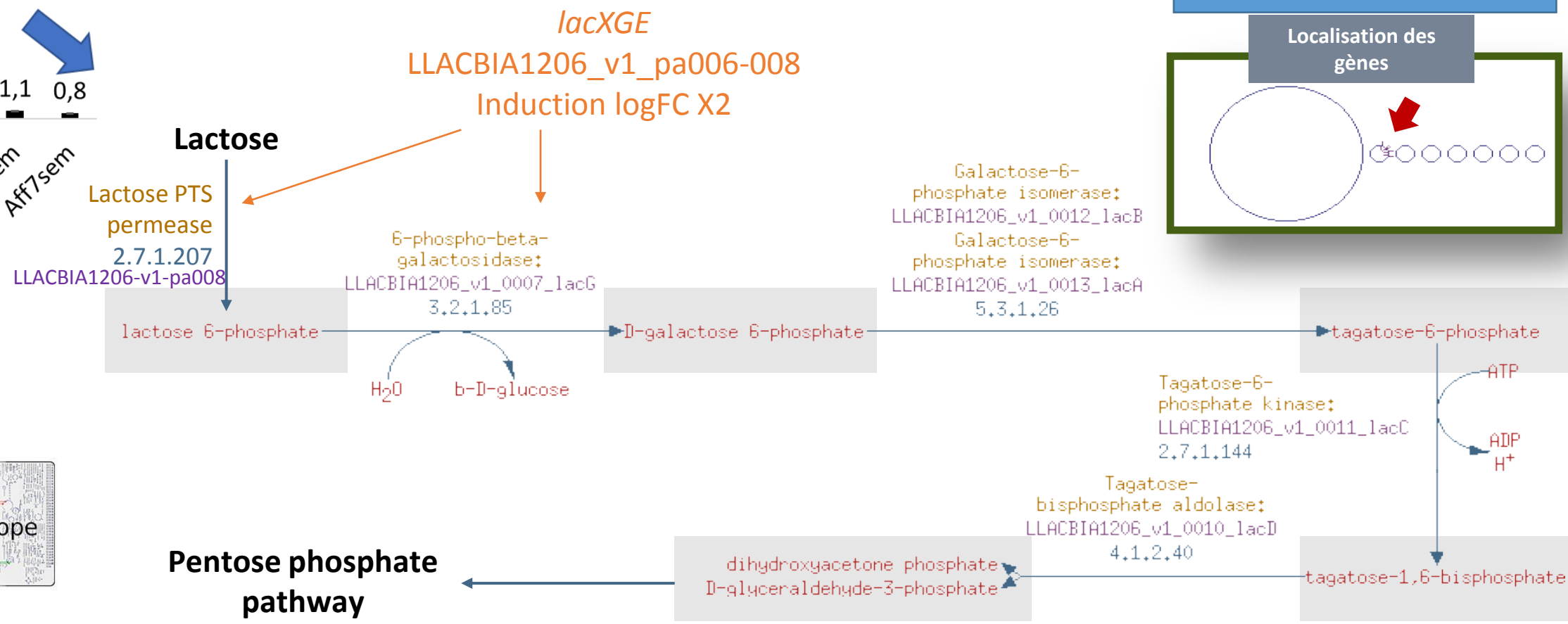
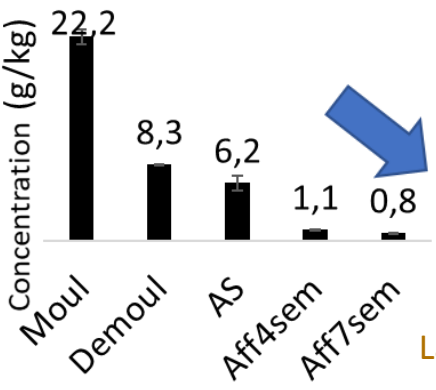


## Voie de Leloir



*gal/RTEK*  
Induction logFC X 5-6

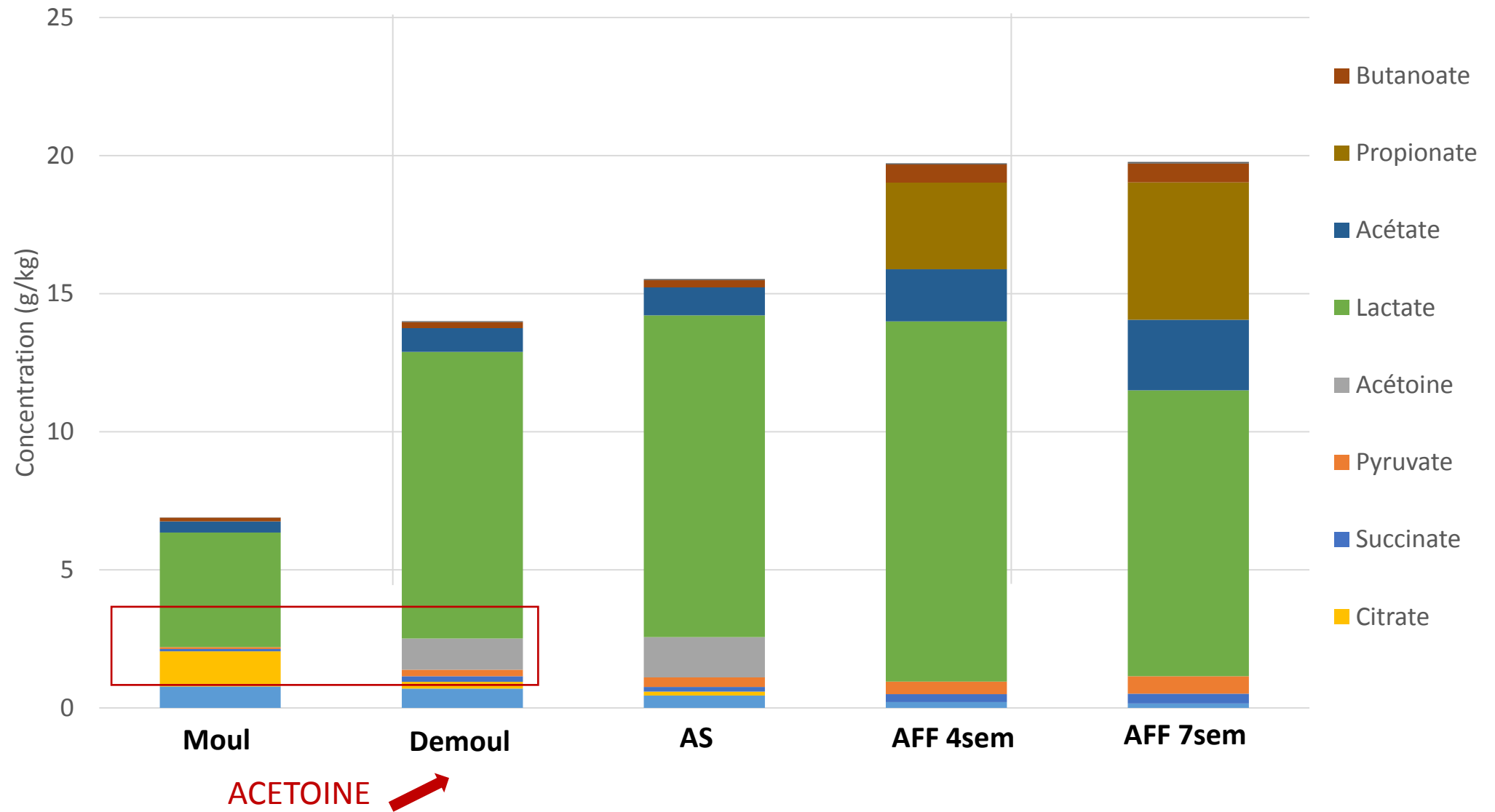
# ➤ Dégradation du lactose chez *Lc. lactis*



Voie du tagatose en accord avec Raynaud et al. 2005

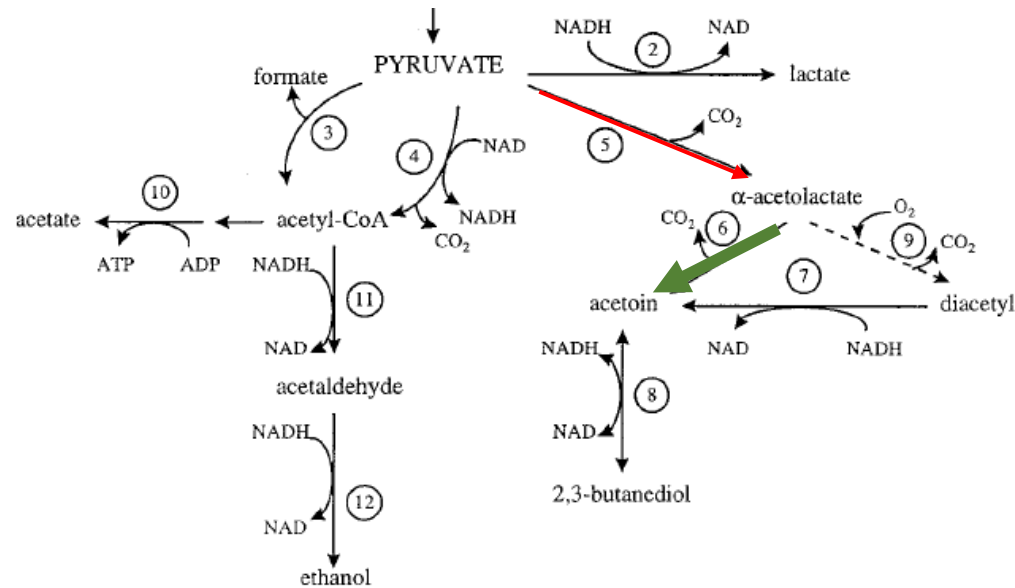
**➔ Compétition**  
Redondance fonctionnelle en utilisant des voies différentes induite à des temps différents

## ➤ Production/dégradation d'acides





## ➤ Production d'acétoïne



### Acétolactate synthase

→ Induction x2-4 logFC chez *Lc. lactis* et *L. plantarum* entre Moul et Demoul

### Acétolactate décarboxylase

→ Induction \*14 logFC chez *P. freudenreichii* entre Moul et Demoul

Modifié d'après Boumerdassi et al. 1997 AEM



Partage des tâches

Redondance fonctionnelle avec induction spécifique

# ➤ Métabolismes successifs des trois espèces

➔ Des bactéries avec l'esprit d'équipe !

LL  
V. Leloir

Lactose > lactate

Acétoïne

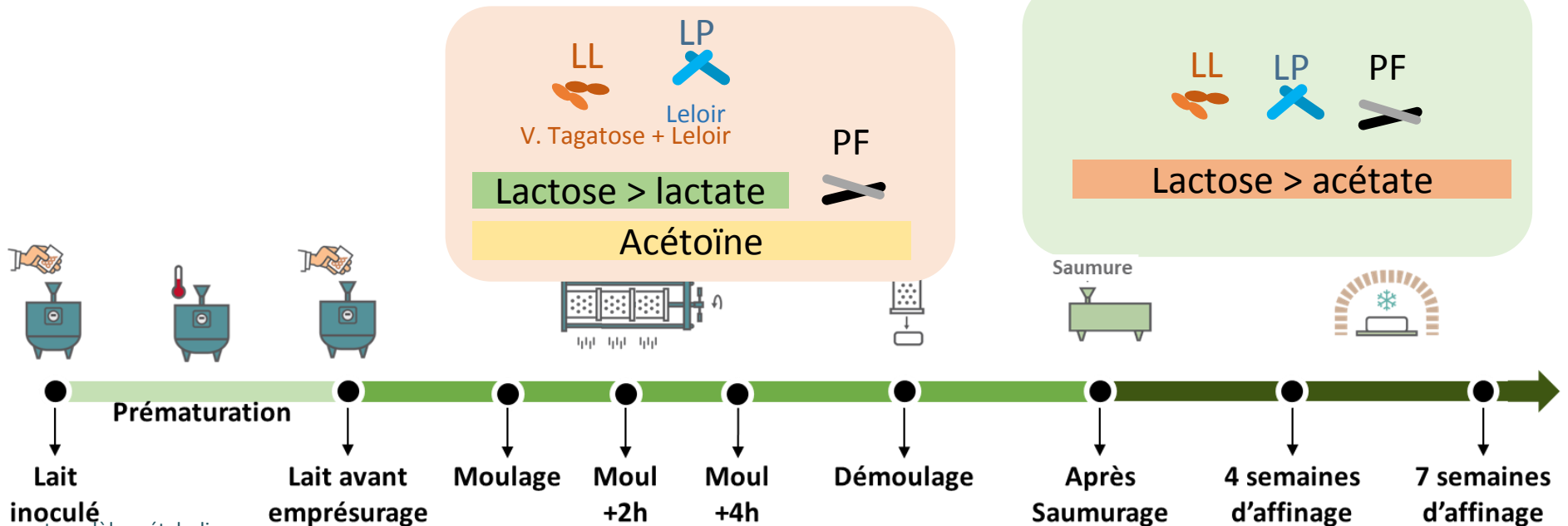
PF  
V. Wood & Werkmann

Lactate > acétate + propionate

AA branché > isovalérate

LL LP PF

Lactose > acétate



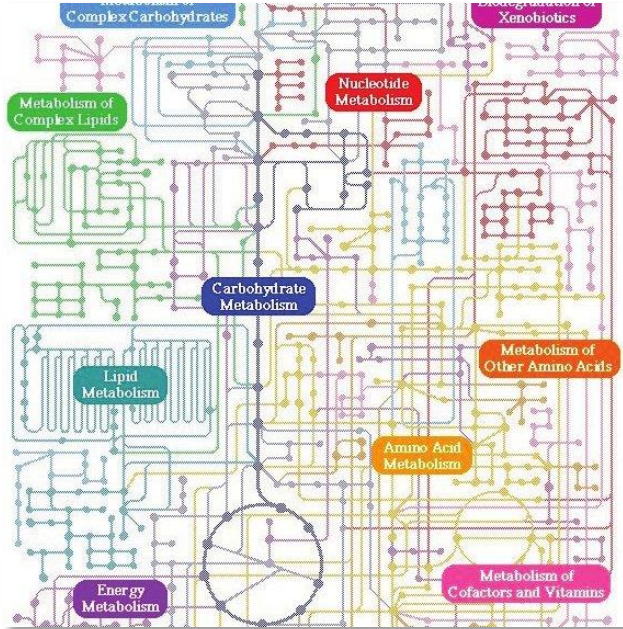
# ➤ Modèle métabolique

Thèse INRIA INRAE Maxime Lecomte



Génome annoté

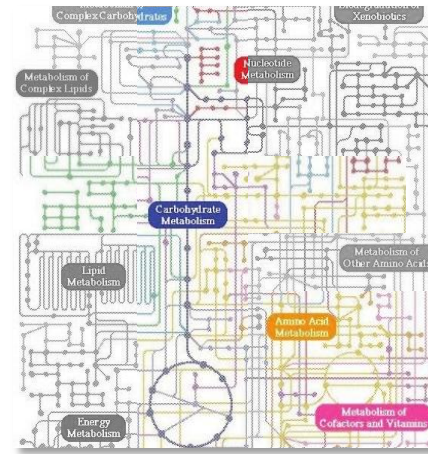
Inférence automatique  
+ curation manuelle



Réseau métabolique

Modélisation

INPUT  
Molécules  
du lait



Réseau métabolique

OUTPUT  
Composés  
identifiés en  
métabolomique



Flux balance analysis  
Maximize/minimize an objective function  
 $\psi = c_1 v_1 + c_2 v_2 + \dots + c_5 v_5$  such that:

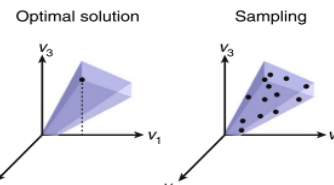
	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	R <sub>5</sub>
▲	-1	0	0	0	0
■	1	-1	0	0	0
+	0	1	-1	0	0
●	0	1	0	0	-1
●	0	0	1	0	0
◆	0	0	0	-1	0
★	0	0	0	0	1

$$\begin{bmatrix} v_1 \\ v_2 \\ v_3 \\ v_4 \\ v_5 \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} 0 \\ 0 \\ 0 \\ 0 \\ 0 \end{bmatrix}$$

S-matrix Flux vector  
and for each reaction  $i$ :  $lb_i \leq v_i \leq ub_i$

Méthodologies :

- Modélisation qualitative (graphes)
- Modélisation quantitative (flux)

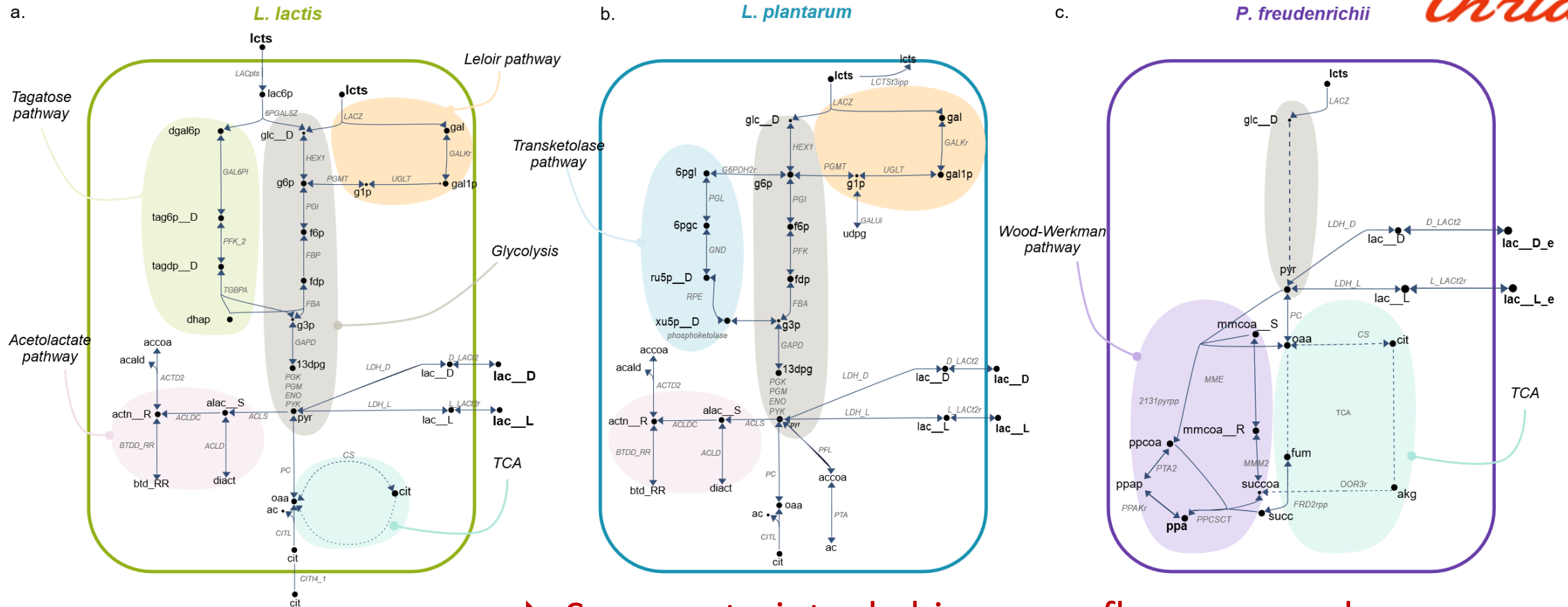
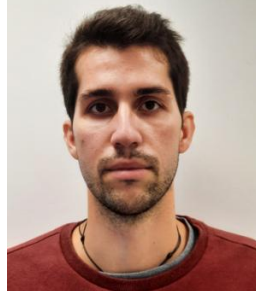


INRAE

Métatranscriptomique et modèle métabolique  
1à juin 2022 / H. Falentin

# ➤ Métabolisme du carbone des 3 souches

Thèse INRIA INRAE Maxime Lecomte



➔ Sous contrainte de biomasse, flux en accord avec la transcriptomique et la métabolomique



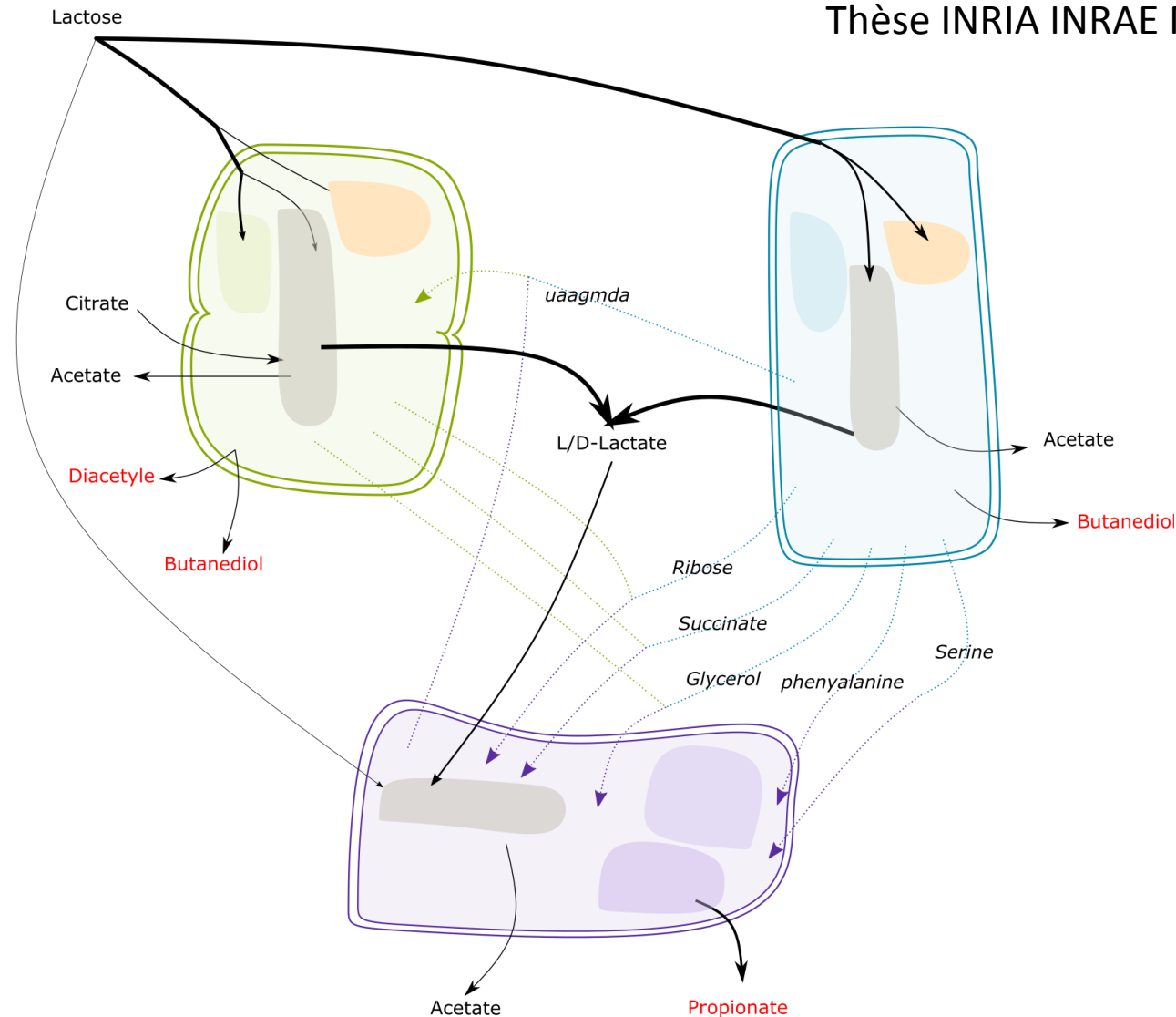
INRAE

Métatranscriptomique et modèle métabolique  
1à juin 2022 / H. Falentin

# ➤ Modèle métabolique à l'échelle de l'écosystème : identification d'interactions



Thèse INRIA INRAE Maxime Lecomte



*Inria*

Logiciel Smetana  
Zelezniak et al. 2015 PNAS



INRAE

Métatranscriptomique et modèle métabolique  
1à juin 2022 / H. Falentin

➔ Identification d'interactions potentielles à valider





# Merci de votre attention

Hélène Falentin

Stéphanie Deutsch

Sandrine Parayre

Anne Thierry

Wenfan Cao

Marie-Bernadette Maillard

Gilles Garric

Marielle Harel-Oger

Arlette Leduc

Françoise Boissel

Jean-Luc Thomas

Bénédicte Camier

Clémence Frioux

Simon Labarthe

Maxime Lecomte

Julie Aubert

Solène Le Fur

David Sherman

Clémence Frioux



INRAE

Métatranscriptomique et modèle métabolique

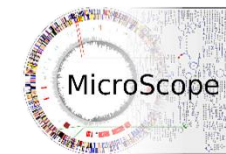
1  juin 2022 / H. Falentin



Bact ries d'Int r t Alimentaire



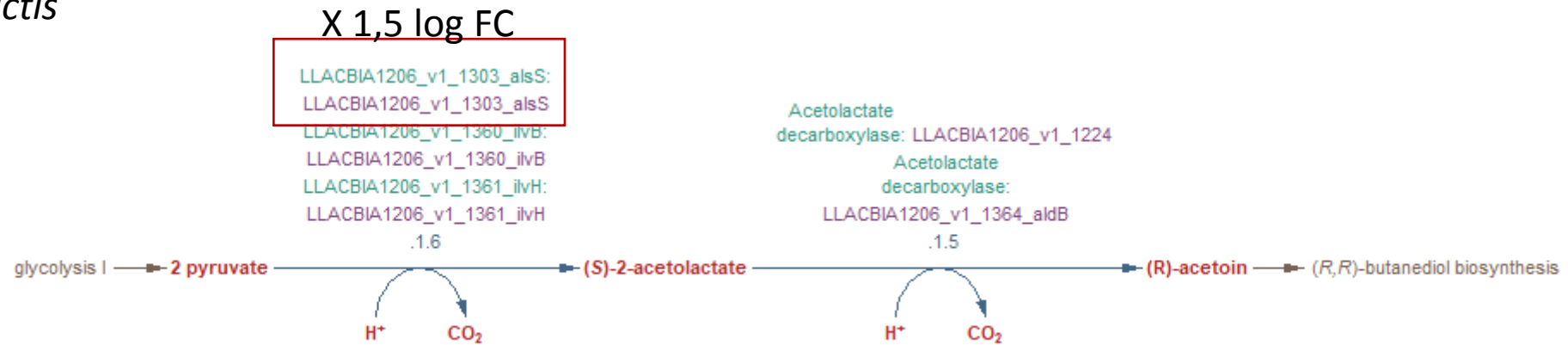
microle



Inria

# ➤ Acétoïne

*L. lactis*



*L. plantarum*