



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-03694338v1>

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



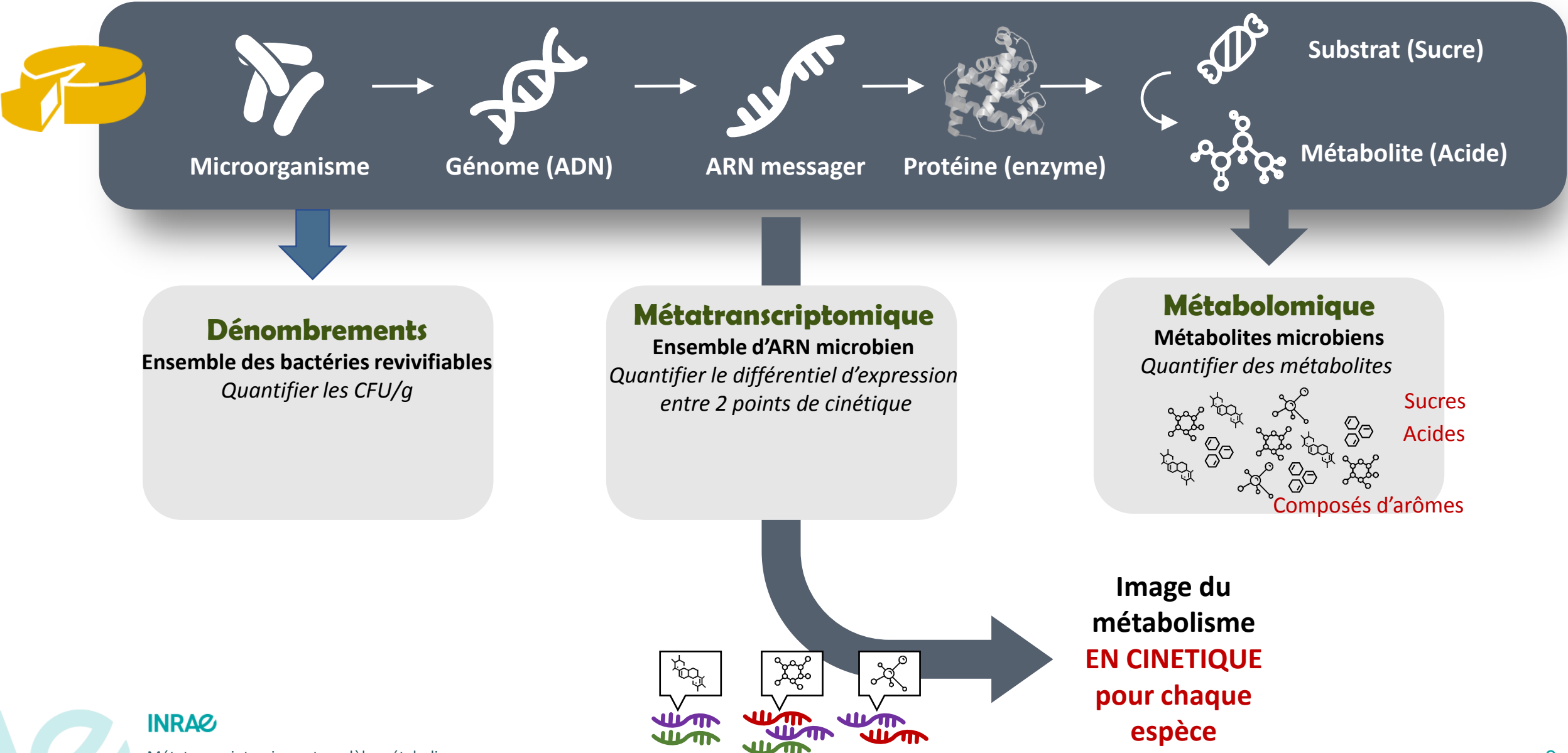
Contexte

- 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

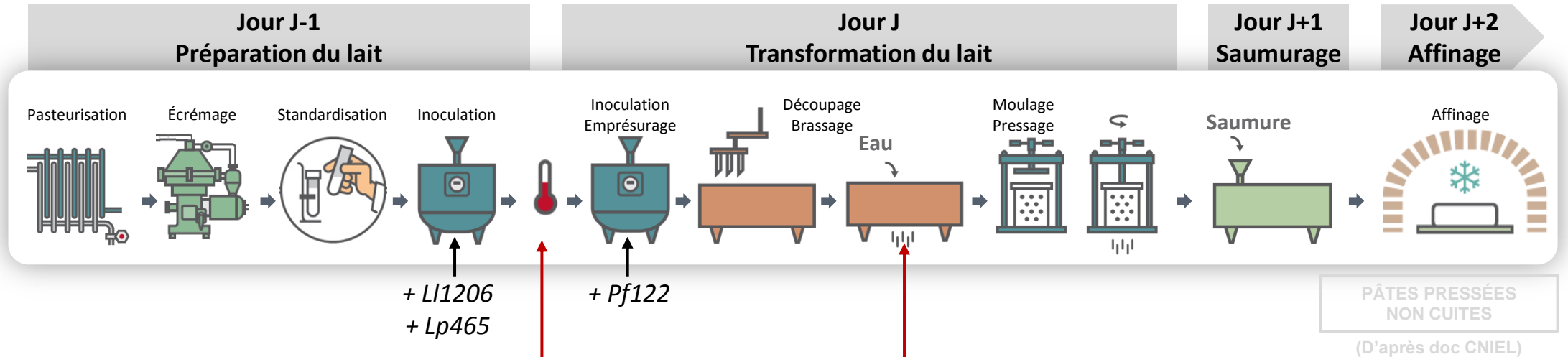
Questions scientifiques

- 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






➤ Fabrications fromagères en conditions contrôlées



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

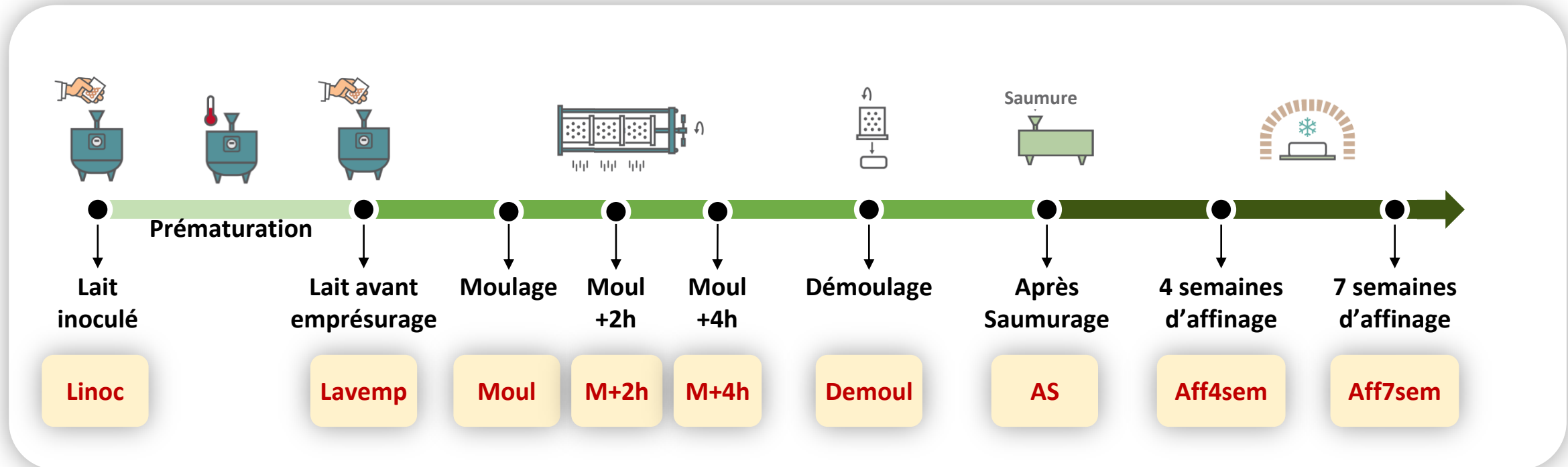
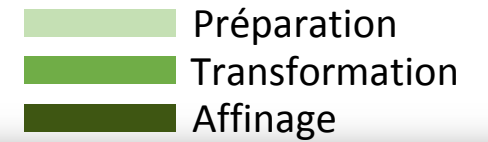


-  **Lactococcus lactis** CIRM-BIA1206
-  **Lactobacillus plantarum** CIRM-BIA465
-  **Propionibacterium freudenreichii** CIRM-BIA122

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

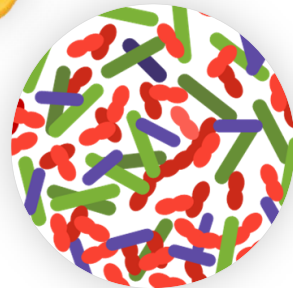
- **Matière azotée** : Kjeldhal
- **Sucres & Acides organiques** : HPLC
- **Composés volatils** : head space + GCMS

Biologie moléculaire

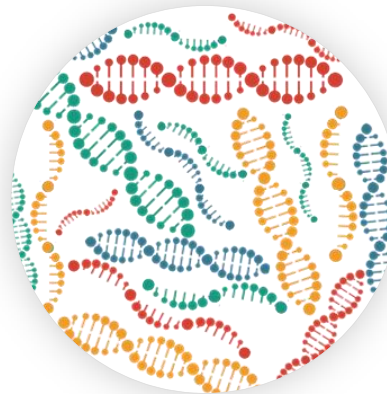
- **ADN** : Dneasy Tissue kit
- **ARN** : QIAzol + Rneasy mini kit
- **Contrôle qualité** : Nanodrop, Qubit, Bioanalyzer
- **Séquençage** : Illumina pairé, PacBio



Fromage



Microorganismes

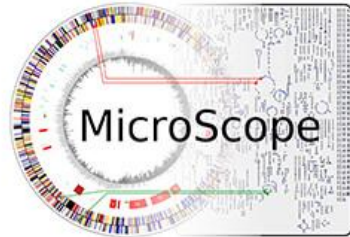


ADNs & ARNs microbiens

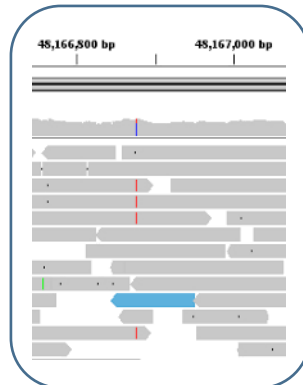
- HPLC : chromatographie liquide haute performance
- CPG-SM : chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse

➤ Matériel et méthodes

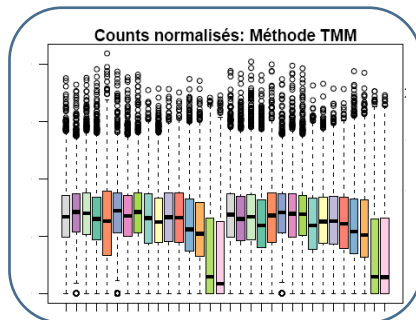
Bio-informatique



Annotation automatique de génomes
Reconstruction de voies métaboliques

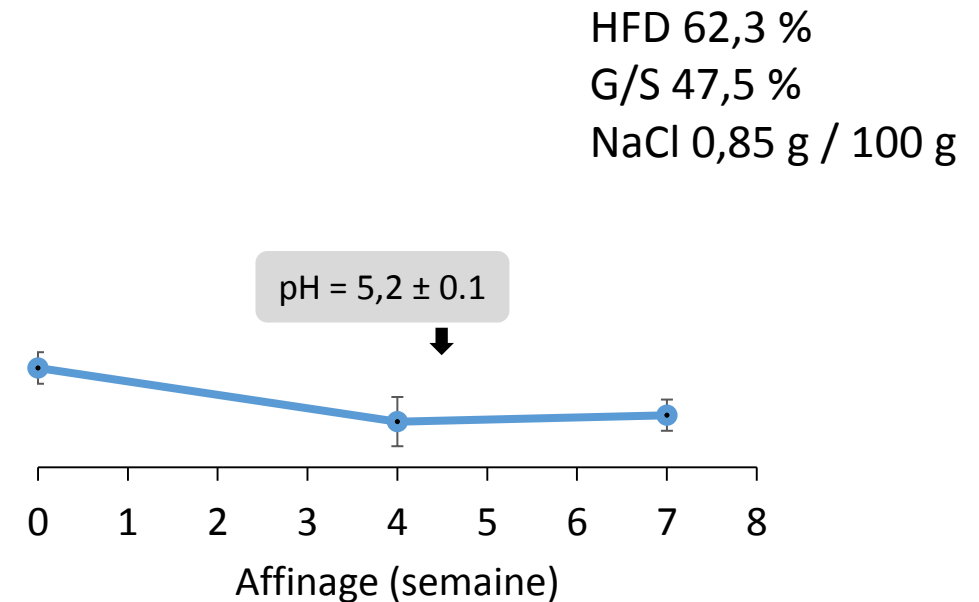
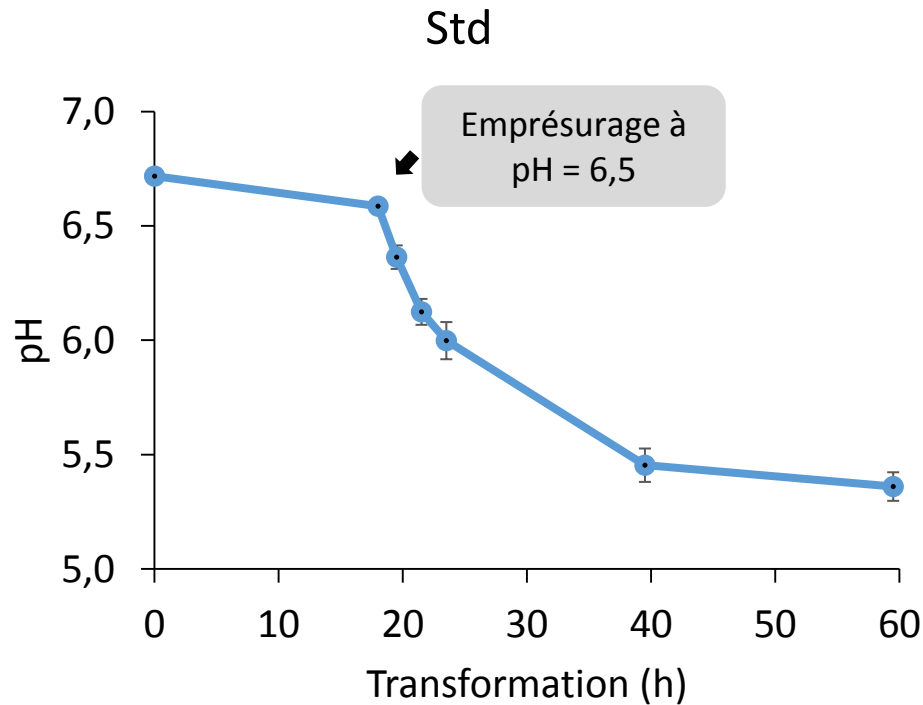
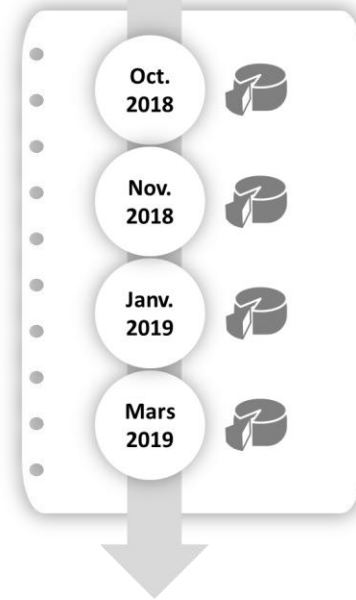
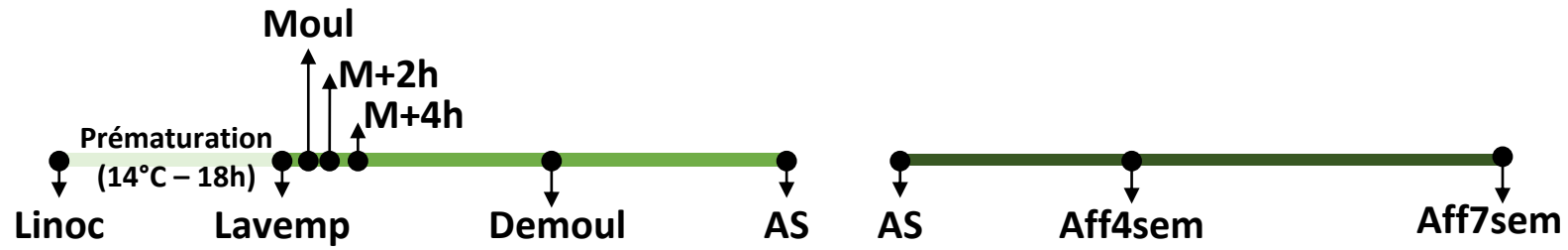


Métatranscriptome
Alignement des reads / génome avec Bowtie
Comptage des reads avec htseq count



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

➤ Fromages modèles répétables (X4)



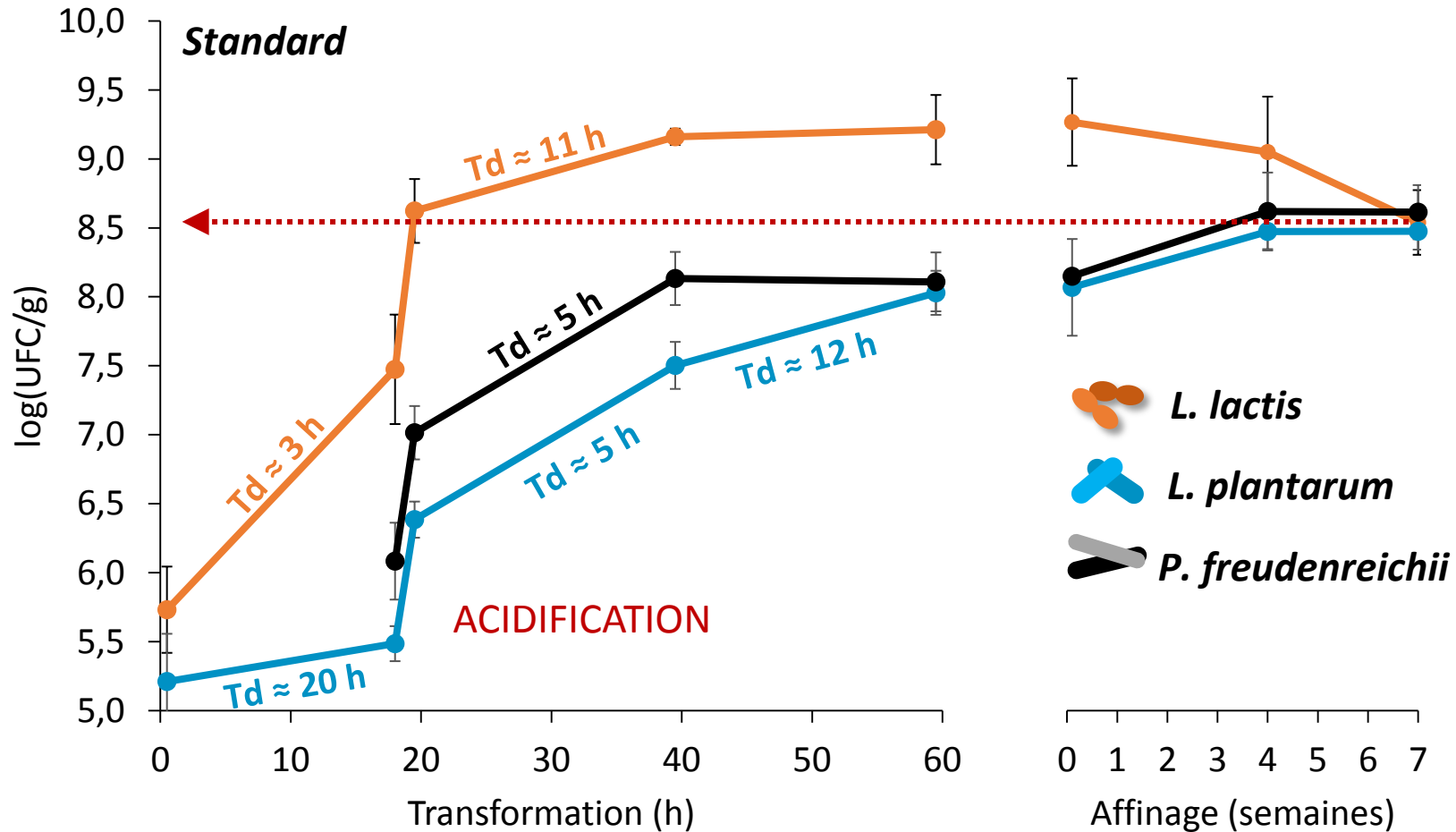
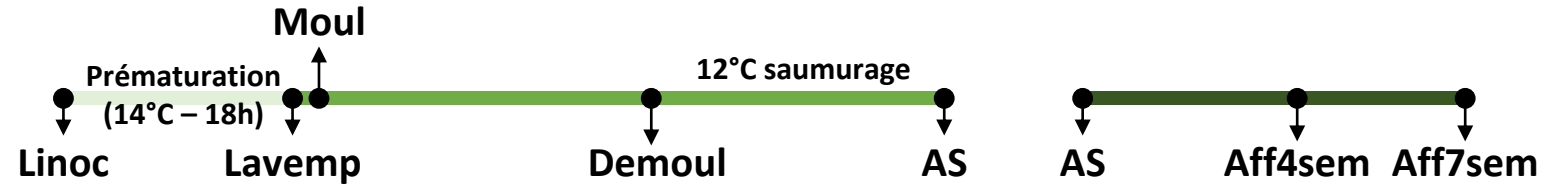
HFD 62,3 %
G/S 47,5 %
NaCl 0,85 g / 100 g



INRAE

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

➤ Croissance bactérienne lactique et propionique



UFC : unité formant colonie

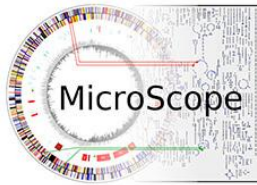
Td : temps de doublement de la population



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
------------	-----------	-------	------	----	---

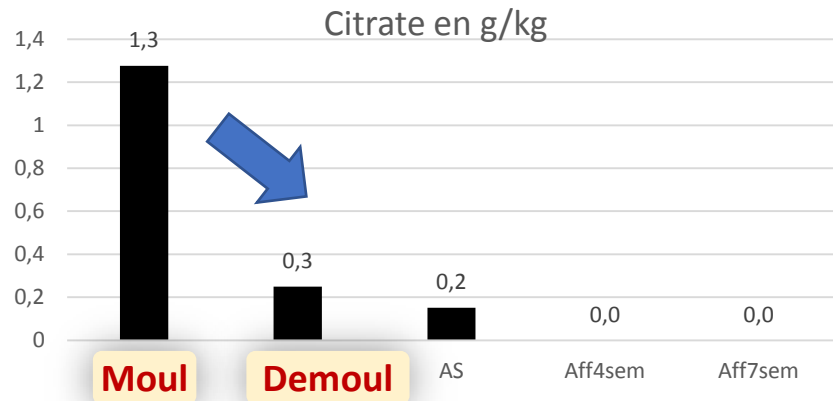


Métatranscriptomique : alignement des séquences d'ARN / génomes



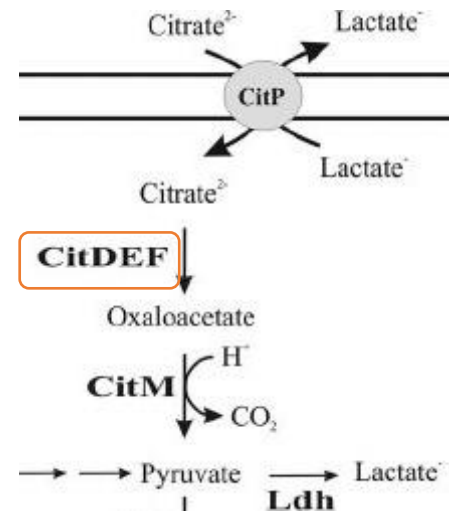
➤ Consommation du citrate par *Lc. lactis*

Moulage > Démoulage



citP
LPLABIA1206_v1_pc0002

citCDEFG
LLACBIA1206_v1_1311-1316



Induction logFC X4
chez *L. lactis*

LLACBIA1206_v1_pc0002
LLACBIA1206_v1_1007

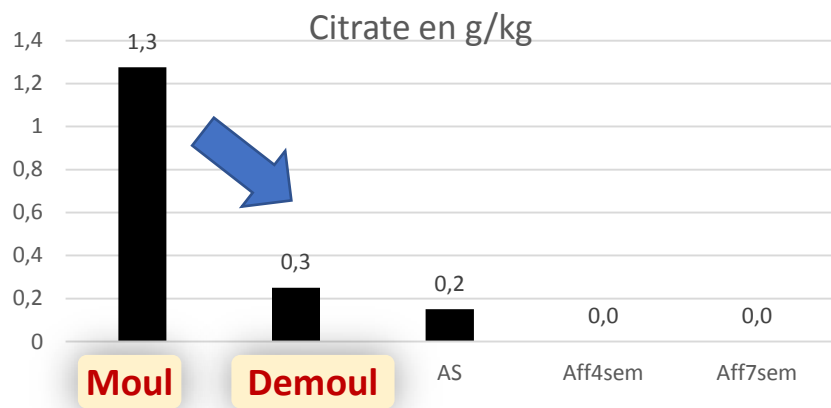
Induction logFC X 2-3
chez *L. lactis*

Garcia-Quintas et al. 2008, AEM



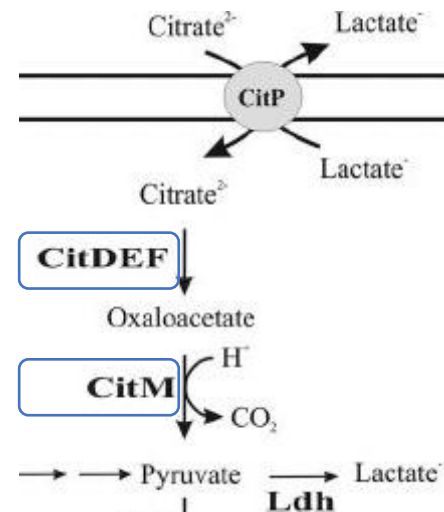
INRAE

➤ Consommation du citrate par *L. plantarum*



LPLABIA465_v1_0482

citMCDEF
LPLABIA465_v1_0962-0966



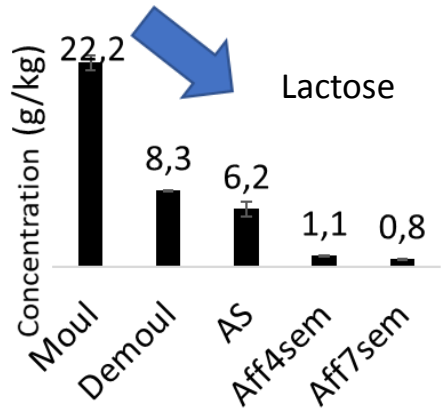
Induction logFC X15
chez *L. plantarum*

Induction logFC X13-16
chez *L. plantarum*

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

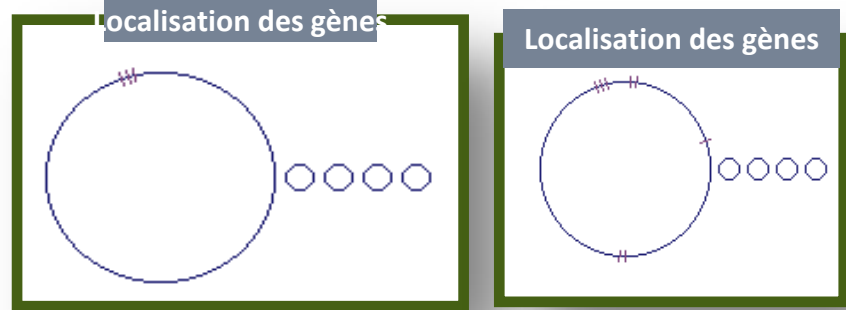
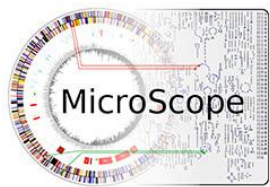
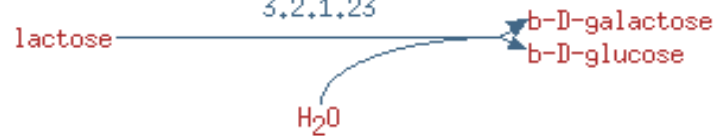
➤ Dégradation du lactose chez *L. plantarum*

Moulage > Démoulage

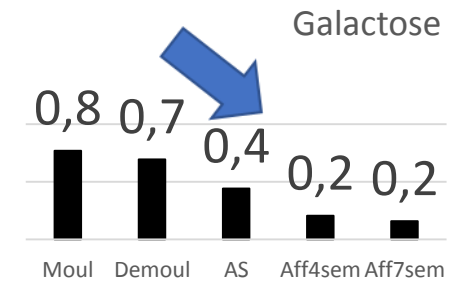
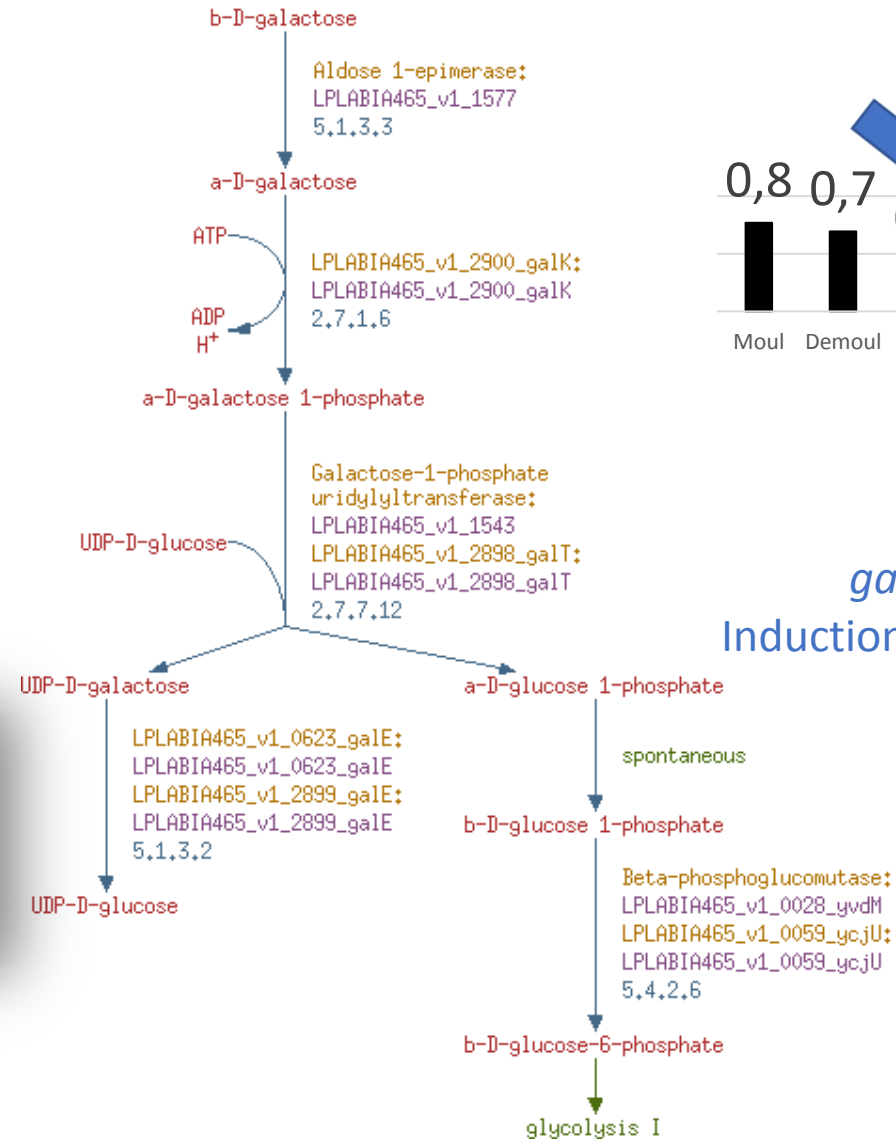


lacLM
Induction logFC X 6-7

LPLABIA465_v1_2888_ganA;
LPLABIA465_v1_2888_ganA
Beta-galactosidase;
LPLABIA465_v1_2901_lacL
Beta-galactosidase;
LPLABIA465_v1_2902_lacM
3.2.1.23



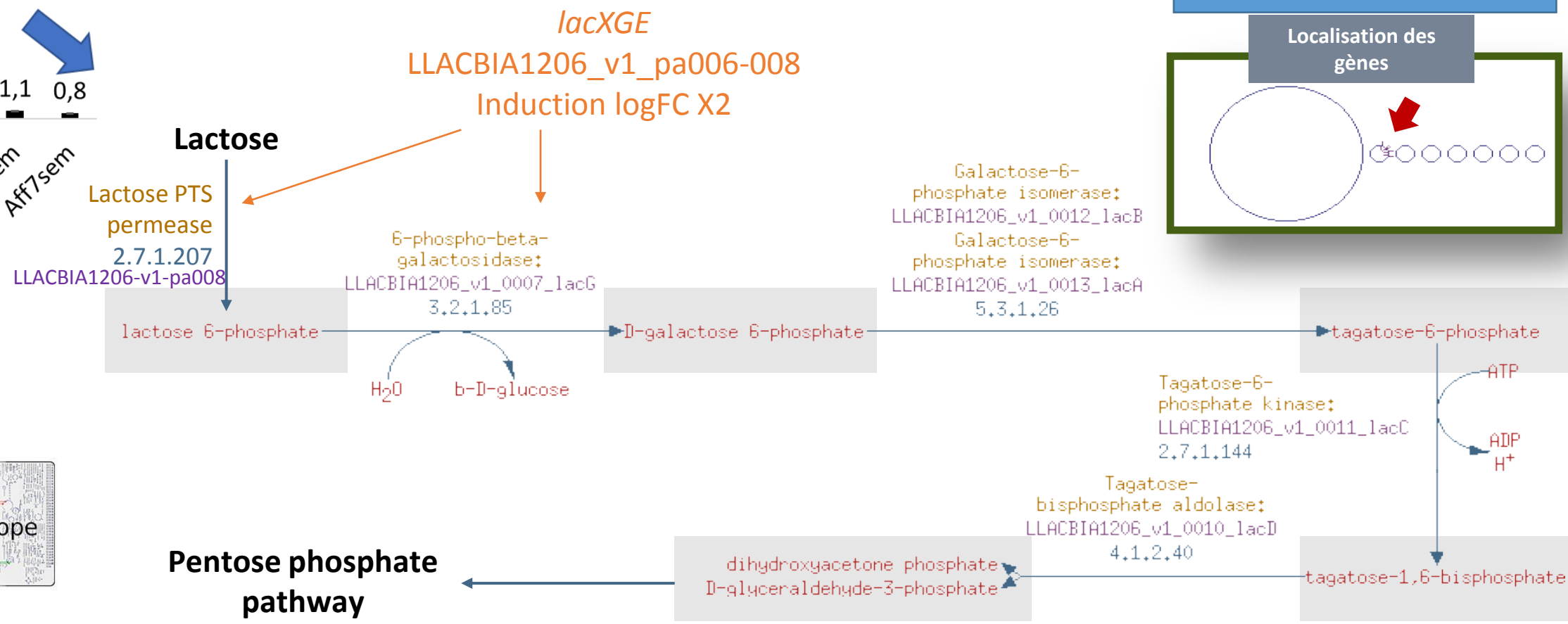
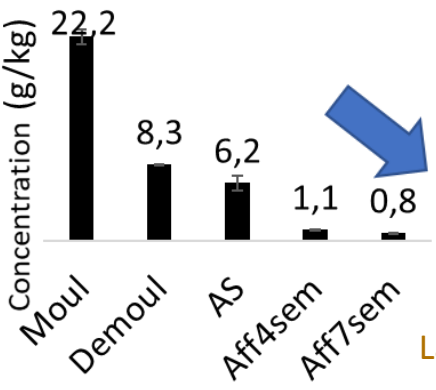
Voie de Leloir



gal/RTEK
Induction logFC X 5-6

Même voie chez *L. lactis* qui s'exprime de façon constitutive

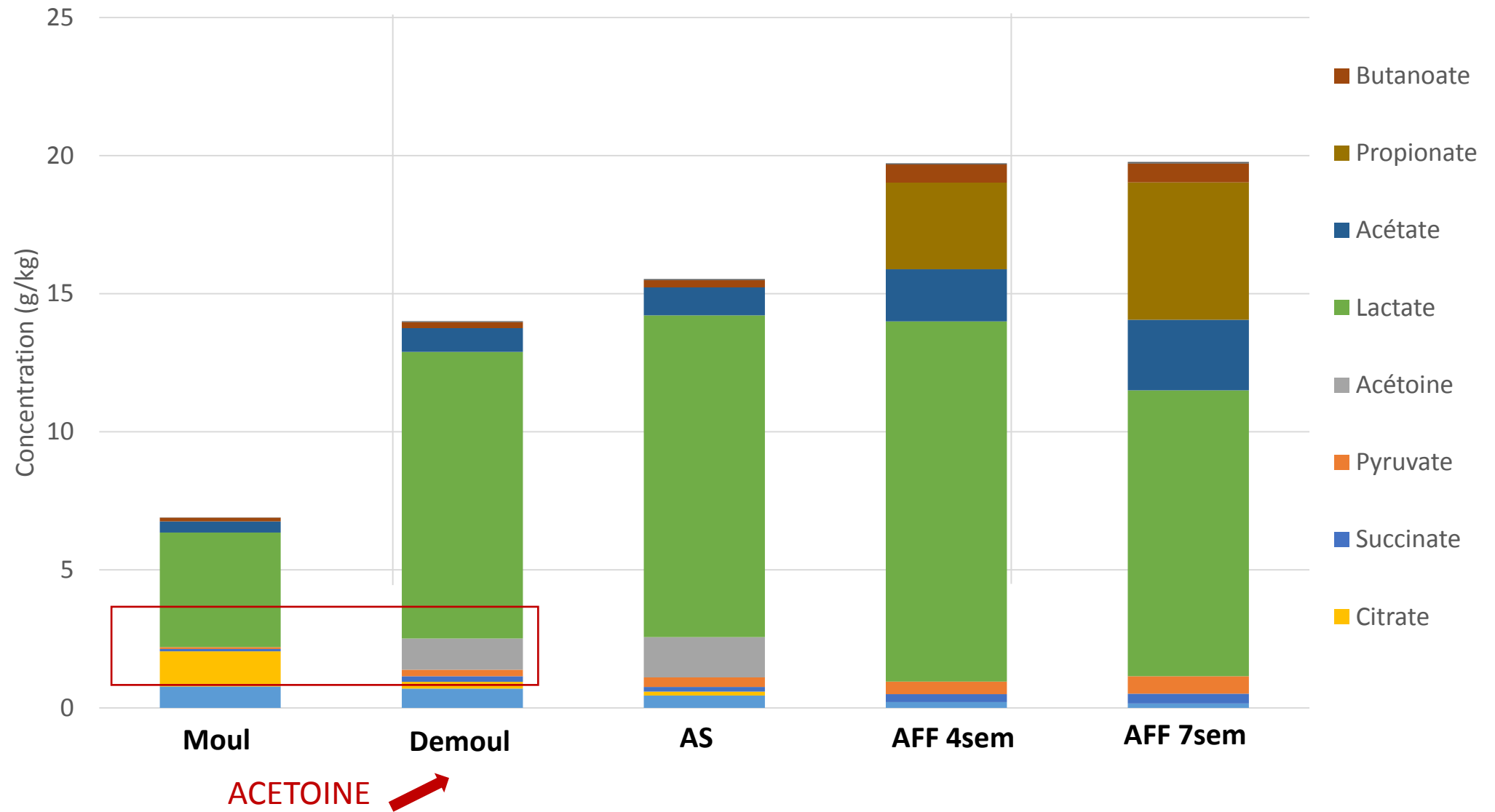
➤ Dégradation du lactose chez *Lc. lactis*



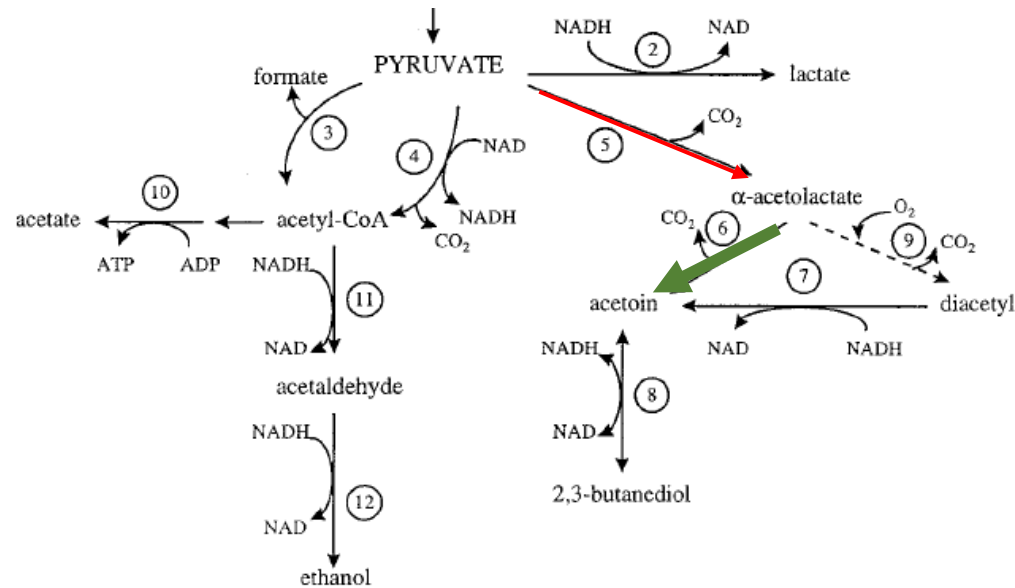
Voie du tagatose en accord avec Raynaud et al. 2005

➔ **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

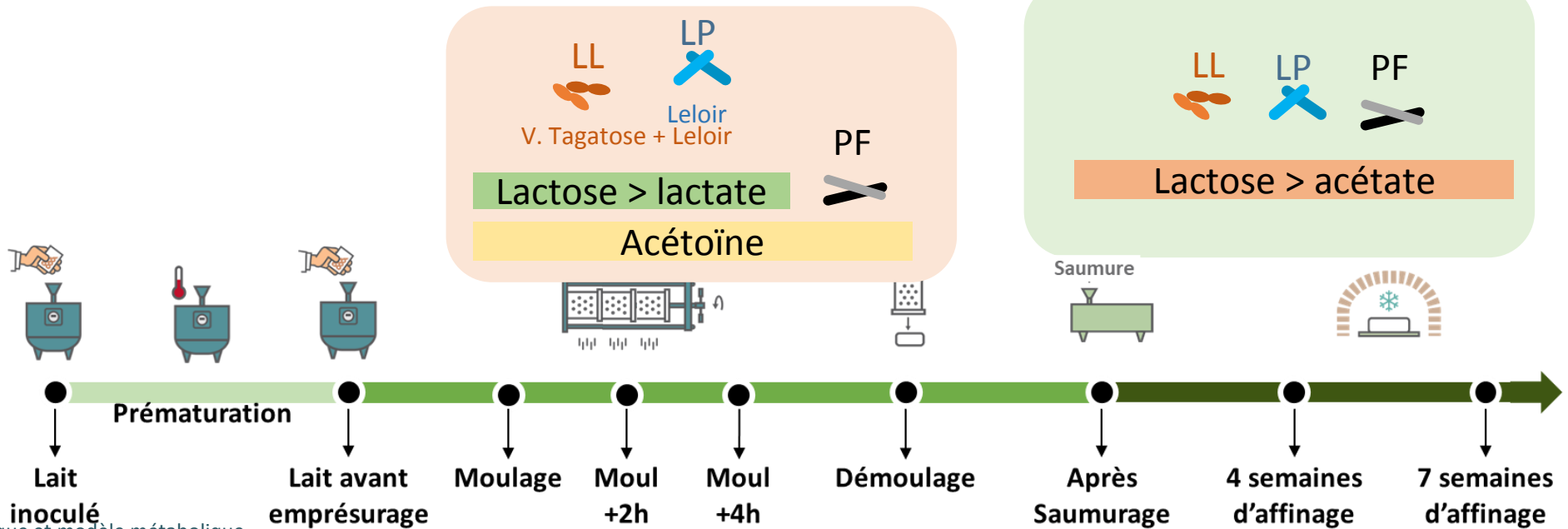
PF
V. Wood & Werkmann

Lactate > acétate + propionate

AA branché > isovalérate

LL LP PF

Lactose > acétate



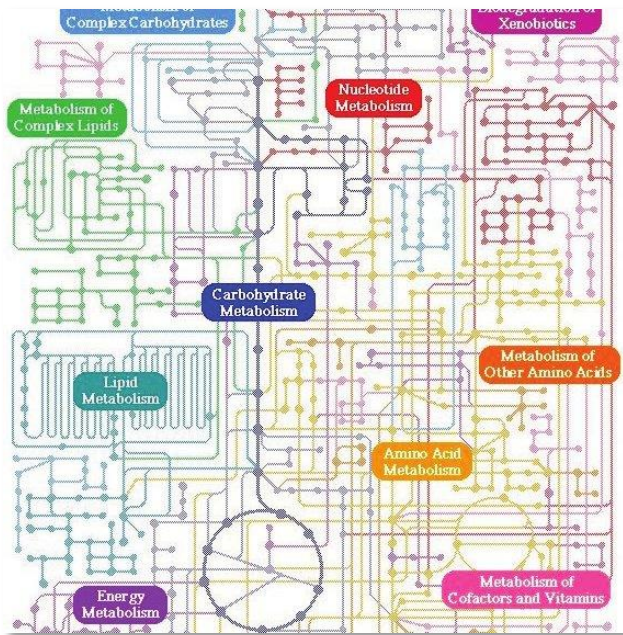
➤ Modèle métabolique

Thèse INRIA INRAE Maxime Lecomte



Génome annoté

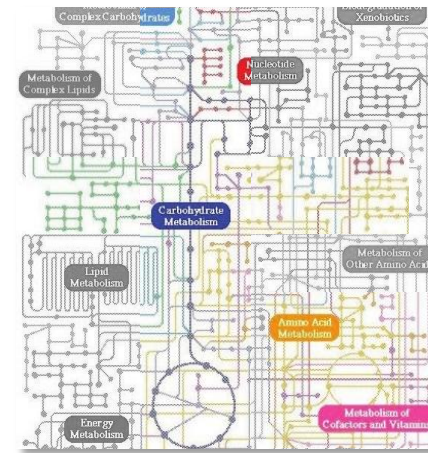
Inférence automatique
+ curation manuelle



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 ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅
▲	-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	1	-1
	0	0	0	0	1

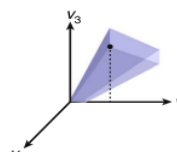
$$\begin{matrix} \text{Metabolites} \\ \begin{matrix} \uparrow \\ + \\ \bullet \\ \bullet \\ \blacklozenge \\ \star \end{matrix} \end{matrix} \times \begin{matrix} \text{Reactions} \\ \begin{matrix} R_1 & R_2 & R_3 & R_4 & R_5 \end{matrix} \\ \begin{pmatrix} v_1 \\ v_2 \\ v_3 \\ v_4 \\ v_5 \end{pmatrix} \end{matrix} = \begin{pmatrix} 0 \\ 0 \\ 0 \\ 0 \\ 0 \end{pmatrix}$$

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

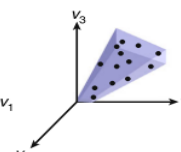
Méthodologies :

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

Optimal solution



Sampling



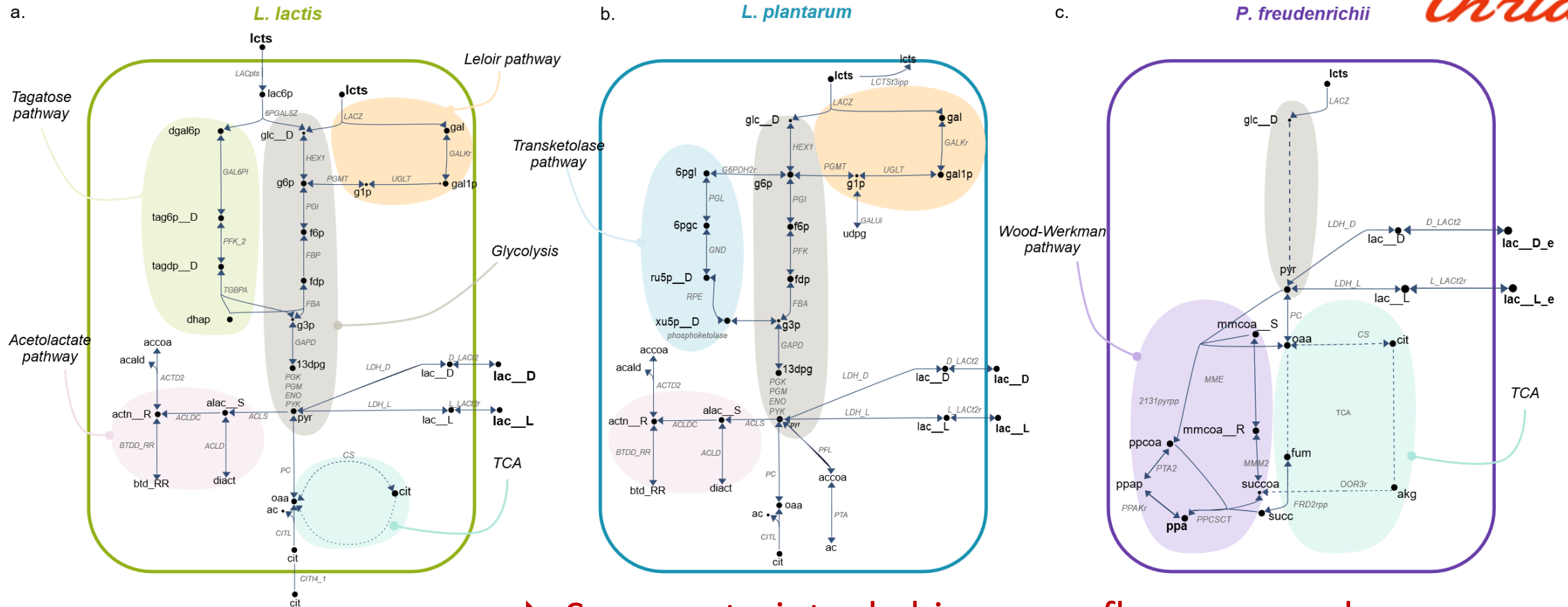
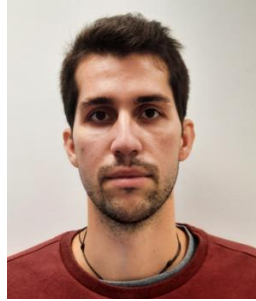
INRAE

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



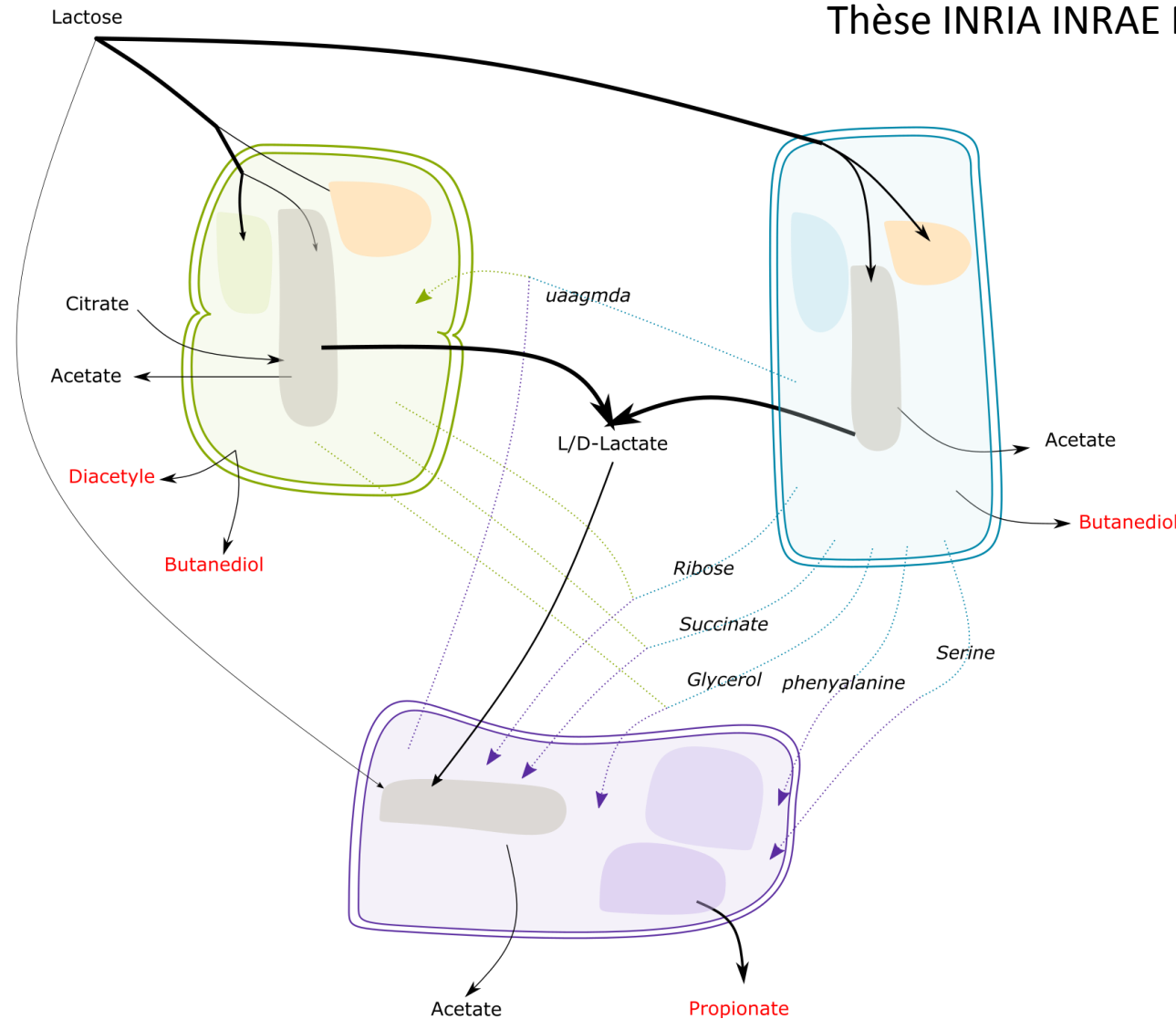
INRAE

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

➔ 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

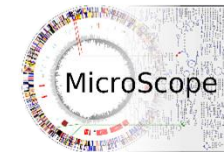
1  juin 2022 / H. Falentin



Bact ries d'Int r t Alimentaire



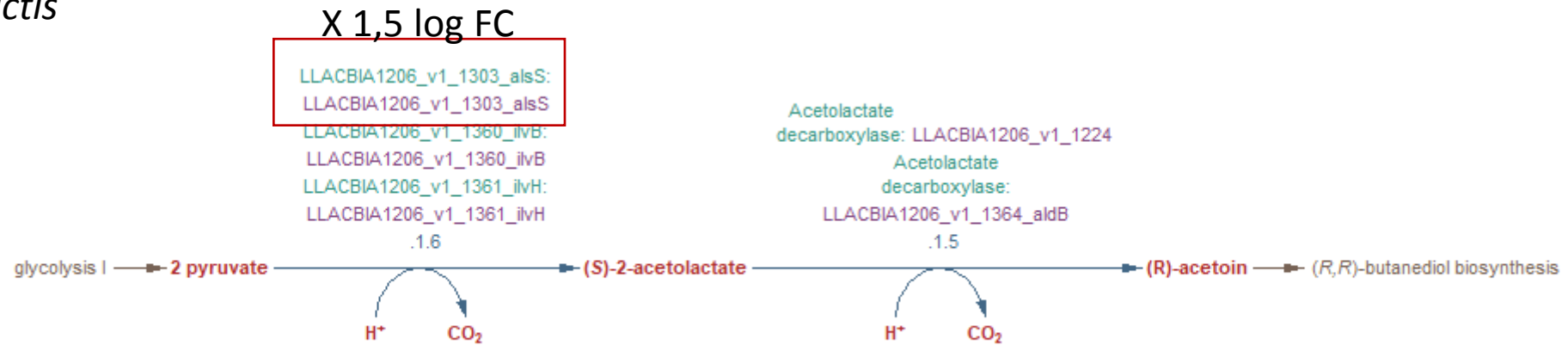
microle



Inria

➤ Acétoïne

L. lactis



L. plantarum