

Offre de stage Master 2 au sein d'une plateforme technologique année 2025-2026

Sujet: Utilisation des substrats hétérotrophes par des bactéries anammox

Durée du stage: 6 mois

Laboratoire d'accueil: Plateforme Biomasse, IMM-FR3479, CNRS-AMU, 31 chemin Joseph Aiguier, CS70071, 13402 Marseille cedex 09

Responsable(s) du stage : Marielle Bauzan, Responsable technique de la plateforme BIOMASSE-Fermentation

Site web : <https://www.imm.cnrs.fr/plateformes/biomasse-ingenierie-des-proteines/>

Contexte :

Les bactéries anammox, découvertes dans les années 1990, transforment le nitrite et l'ammonium en N_2 en conditions d'anaérobiose, tout en fixant du CO_2 . Elles sont responsables de la transformation de l'azote fixé en N_2 dans les écosystèmes et leurs propriétés sont utilisées dans des stations d'épuration des eaux usées (van der Star 2007, Lackner et al. 2014). Aucune culture pure de ces organismes n'est disponible à ce jour.

La plateforme de fermentation de l'IMM développe la culture de micro-organismes non conventionnels tels que les bactéries extrêmophiles, les bactéries anaérobies strictes; Elle produit de la biomasse bactérienne pour la recherche fondamentale et notamment pour le laboratoire de l'IMM « bioénergétique et ingénierie des protéines » (BIP) et développe des procédés de culture en mode batch, fed-batch et continu; Elle a ainsi mis en place une culture des bactéries anammox en bioréacteur mode chemostat depuis 2020 avec une culture enrichie à 99%. Les bactéries anammox ont la capacité de métaboliser des substrats hétérotrophes (Kartal et al 2007a,b, 2008). Ces voies métaboliques jouent certainement un rôle important dans leur habitat naturel et dans les stations d'épuration mais n'ont été que très peu étudiées à cause de la présence de bactéries annexes dans la culture qui rend difficile ces études par des méthodes habituelles : En effet, le temps de doublement des bactéries anammox étant très long (7 jours en conditions d'autotrophie), les autres bactéries prennent rapidement le dessus, en quelques jours, en présence de molécules organiques. Or, la connaissance de ces voies métaboliques est importante pour le futur développement des stations des eaux usées: transforment-elles les substrats organiques en biomasse ou en CO_2 ? Quel est l'impact de la présence de ces molécules sur le métabolisme de l'azote?

Des mesures en microcalorimétrie du métabolisme des composés azotés des bactéries anammox ont été mises au point très récemment sur la plateforme Génie des procédés du laboratoire M2P2, plateau technologique de l'Arbois. Cette technique devrait permettre d'étudier le métabolisme des molécules hétérotrophes par les bactéries anammox car ces mesures ne nécessitent que quelques heures de culture.

Les procédés de traitement des eaux usées qui utilisent des bactéries anammox sont encore peu répandus en France en comparaison d'autres pays comme les Pays-Bas. La plateforme du M2P2 est engagée dans ces applications et entretient des collaborations avec des industriels comme ATHENA-Nantes. La plateforme de fermentation est la seule plateforme du CNRS labellisée IBISBA « infrastructure de biologie synthétique » au niveau français et européen. Ce label reflète les services rendus aux universités, aux laboratoires de recherche et à l'industrie, ainsi que son implication dans la formation des étudiants du niveau licence au doctorat ainsi que sa participation au programme universitaire européen CIVIS en bioprocédés.

Objectif du stage :

La/le stagiaire développera sur la plateforme de fermentation de l'IMM des mini-cultures en batch dans lesquelles le métabolisme pourrait être déclenché par ajout du substrat: nitrite/ammonium, nitrate/acétate, formate/nitrate ou des mélanges de ces substrats. Elle/il suivra la consommation des substrats dans les heures après injection par chromatographie ionique (nitrite et nitrate) et HPLC (acétate et formate), l'accès à ces techniques se fera au BIP sous la responsabilité de Frauke Baymann (CR, BIP09). La courte durée des expériences devrait empêcher une augmentation significative des populations annexes, postulat qui sera vérifié tout au long des cultures par microscopie optique. Une fois la cinétique de la consommation des métabolites établie, le/la stagiaire mènera la même expérience dans un microcalorimètre situé sur la plateforme Génie des procédés du laboratoire M2P2 aux Arbois sous la responsabilité de Jean-Henry Ferrasse. La microcalorimétrie permet de mesurer très précisément la quantité de chaleur dégagée au cours du métabolisme anabolique (transformation d'acétate et de formate en CO₂ ou du nitrite et de l'ammonium en N₂) et de la chaleur absorbée durant le métabolisme catabolique (intégration d'acétate, de formate ou de CO₂ en biomasse) (Tafoukt et al. 2017). La comparaison des valeurs théoriques avec les valeurs mesurées (Wang et al. 2020) permettra de connaître le destin des molécules hétérotrophes en présence et en absence des molécules azotées.

Profil attendu du candidat:

Un/e microbiologiste avec une ouverture vers la thermodynamique et la capacité de travailler avec des personnes différentes sur deux lieux (reliés par un bus direct de St Charles aux Arbois). N'hésitez pas à nous contacter pour plus d'information.

Modalités des candidatures :

Merci de faire parvenir un CV, une lettre de motivation, une lettre de recommandation et les résultats de la licence 3 et du Master 1 (notes et classement),
par mail à bauzan@imm.cnrs.fr et jean-henry.ferrasse@univ-amu.fr

Références bibliographiques :

Kartal B, Rattray J, van Niftrik LA, van de Vossenberg J, Schmid MC, Webb RI, Schouten S, Fuerst JA, Damsté JS, Jetten MS, Strous M. (2007a) *Syst. App. Microbiol.*, doi.org/10.1016/j.syapm.2006.03.004.
Kartal B, Kuypers MM, Lavik G, Schalk J, Op den Camp HJ, Jetten MS, Strous M (2007b) *Environ. Microbiol.*, doi.org/10.1111/j.1462-2920.2006.01183.x.
Kartal B, van Niftrik L, Rattray J, van de Vossenberg JL, Schmid MC, Sinninghe Damsté J, Jetten MS, Strous M (2008) *FEMS Microbiology Ecology*, doi.org/10.1111/j.1574-6941.2007.00408.x.
Lackner, S., Gilbert, E. M., Vlaeminck, S. E., Joss, A., Horn, H., van Loosdrecht, M. C. (2014) *Water Res* 55, 292-303
Tafoukt D, Soric A, Sigoillot JC, Ferrasse JH (2017) *Bioproc and Biosys Eng*, 40, 643-650
van der Star, W. R., Abma, W. R., Blommers, D., Mulder, J. W., Tokutomi, T., Strous, M. *et al.* (2007) *Water Res* 41, 4149-4163
Wang Y, Wang G, Moitessier N, Mittermaier AK (2020) *Front. Mol. Biosci.*, Sec. Biological Modeling and Simulation, Volume 7