

MICROBIOLOGIQUES ET ALIMENTAIRES (GPMA)

Université de Bourgogne / AgroSup Dijon
IFR 92

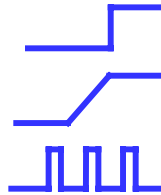
- Équipe rattachée à la **DSPT8** (Sciences pour l'Ingénieur)
- 2007 : Création par le **regroupement** d'un laboratoire du domaine des **procédés** (EA 1687 GPAB) (7 EC) et d'une partie (4 EC) d'une unité mixte de recherche en **microbiologie/enzymologie** (UMR INRA/uB Microbiologie 1232).
- L'équipe comprend aujourd'hui **13 EC** dont **8 HDR**
- L'équipe est répartie sur **2 sites proches** : **AgroSup Dijon Nord** (3 niveaux) qui accueillent 12 EC et 2 IATOS et la **Plateforme de Prédéveloppement en Biotechnologie (PPB)** située dans le centre INRA de Dijon et qui accueille 1 EC et 1 IATOS.

Étude des réponses microbiennes à l'application de perturbations physiques et chimiques de cinétiques variables

Cellules



Variables d'entrée



Réponses étudiées

- **Réponses passives (physiques)**
- Structure et fluidité membranaire
- Volume cellulaire
- **Réponses actives (biologiques)**
- Transcriptome, Protéome, métabolisme
- Viabilité, croissance

Cellules étudiées

- Levures
- Champignons filamenteux
- Bactéries
- Spores bactériennes
- Cellules humaines
- Liposomes

Nature de la variation

- Température (froid / chaud)
- Pression (→ 6000 bars)
- Hydratation
- Éthanol, acides phénols, arômes,...
- Potentiel Redox

Analyses effectuées

- Microscopie confocale et spectrale
- Spectrophotométrie (IRTF, Fluorescence)
- Génétique inverse, mutagenèse par transposition, délétion et expression de gènes
- Biochimie des mécanismes de régulation

Comprendre les mécanismes à l'origine de l'adaptation ou de la mort de différents types de cellules...

- végétatives,
- sèches, spores

... et les rôles respectifs :

- du changement d'état de la membrane,
- de la dénaturation des protéines,
- de l'expression des gènes,
- de la synthèse des protéines

Améliorer les procédés de fermentation, de conservation ou de destruction des microorganismes :

- déshydratation de levures et des bactéries,
- congélation de cellules d'intérêt,
- pasteurisation à faible température,
- production de molécules d'intérêt (arôme, enzymes),
- décontamination des poudres.

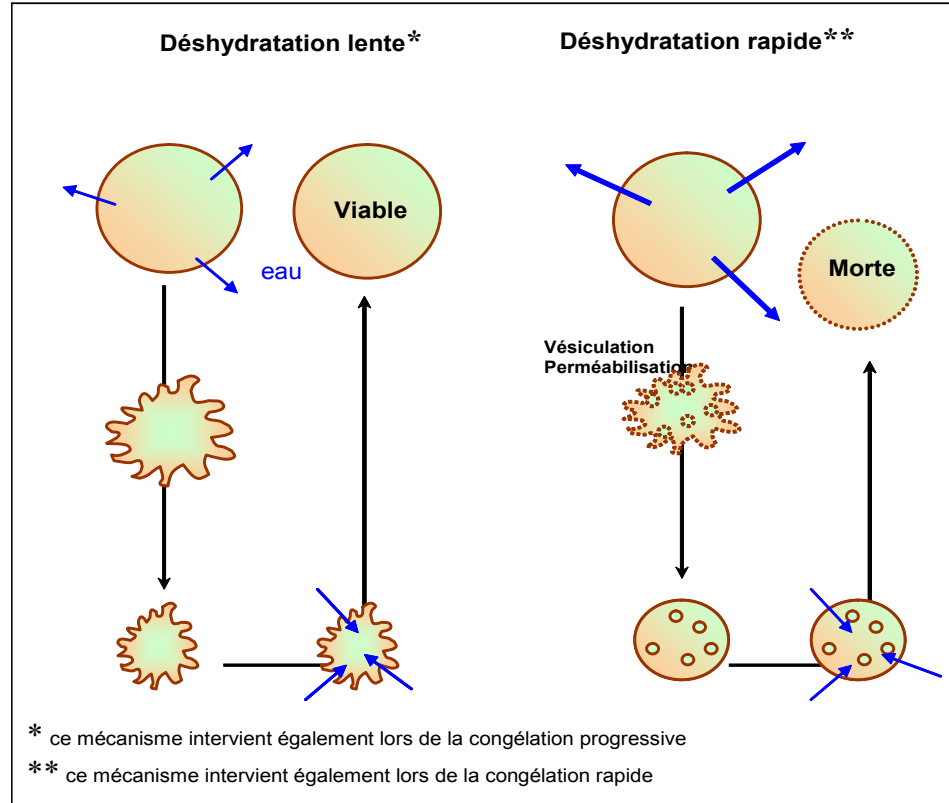
Principaux résultats

- Réponses physiques aux perturbations environnementales extrêmes
 - Exemple de mécanismes membranaires impliqués dans la survie à la déshydratation – congélation

- Réponses génétique et physiologique des microorganismes à différentes perturbations environnementales
 - Exemple de mécanismes cytoplasmiques impliqués dans la réponse acide

- Réponses à des perturbations couplées (HP/T, Hydratation/redox, Hydratation/T)

- Influence de la cinétique de déshydratation (ou de congélation) sur l'évolution de la structure membranaire et de la viabilité cellulaires



- La vitesse d'application d'une perturbation (congélation, déshydratation) conditionne la survie cellulaire
- La membrane plasmique est une structure sensible à la cinétique d'application de ces perturbations

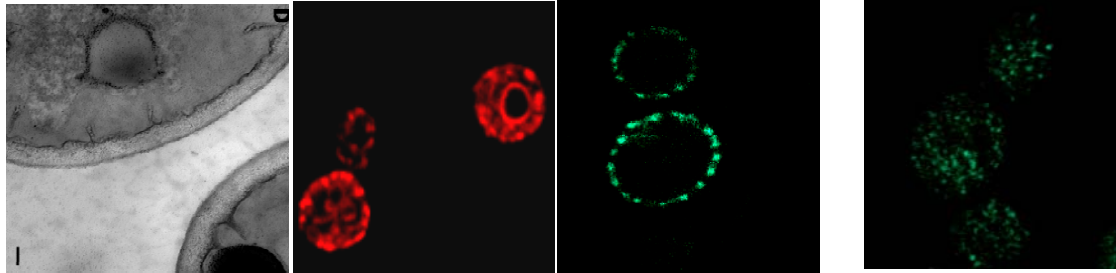
Réponses physiques aux perturbations environnementales extrêmes : Mécanismes membranaires impliqués

- La vitesse de déshydratation conditionne l'évolution structurale de la membrane plasmique

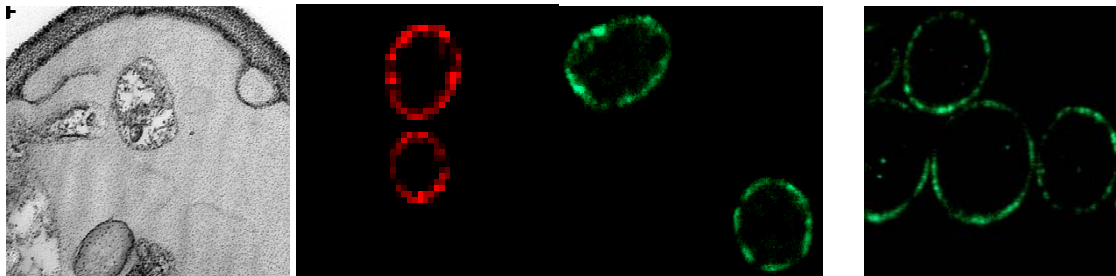
État déshydraté

Réhydraté

Perturbation rapide



Perturbation lente



Ultrastructure

MET

Localisation mb

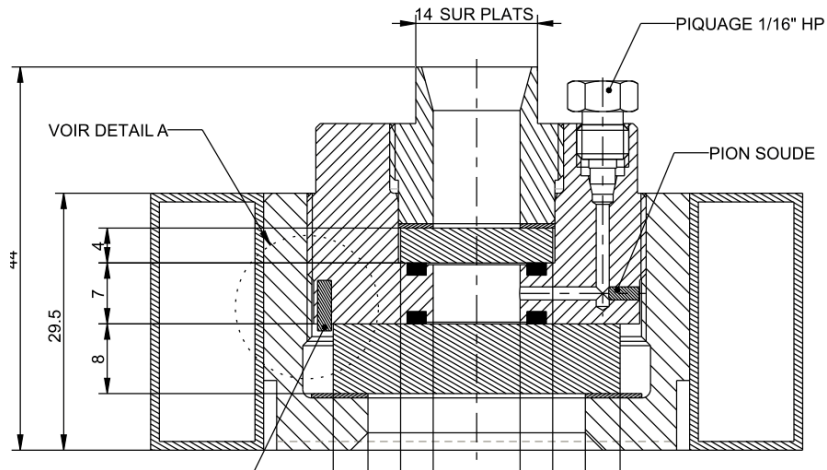
Confocale + Sonde fluo. FM 4-64

Protéine membranaire

Confocale + Construction GFP

- Influence des perturbations environnementales sur la structure membranaire (adaptation passive)
- Rôle des microdomaines membranaires dans la résistance aux perturbations (stéroïdes)
- Nouvelles voies d'internalisation passive de molécules dans les cellules

- Développement de réacteurs originaux : milieux liquides et gaz



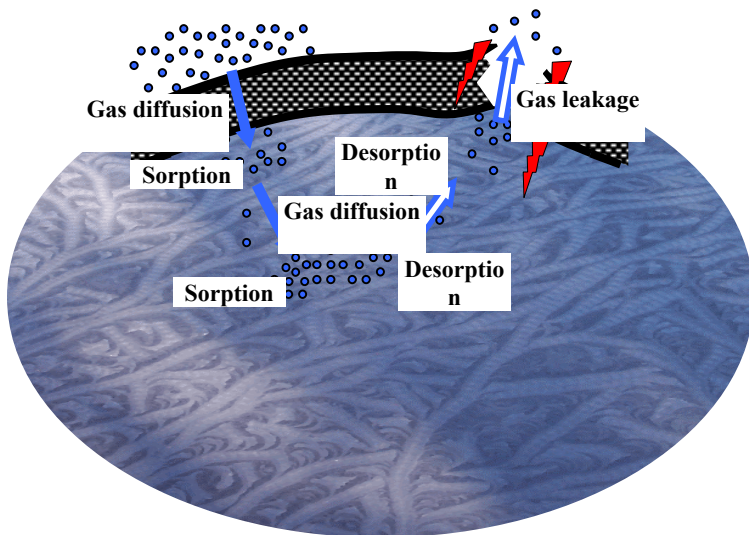
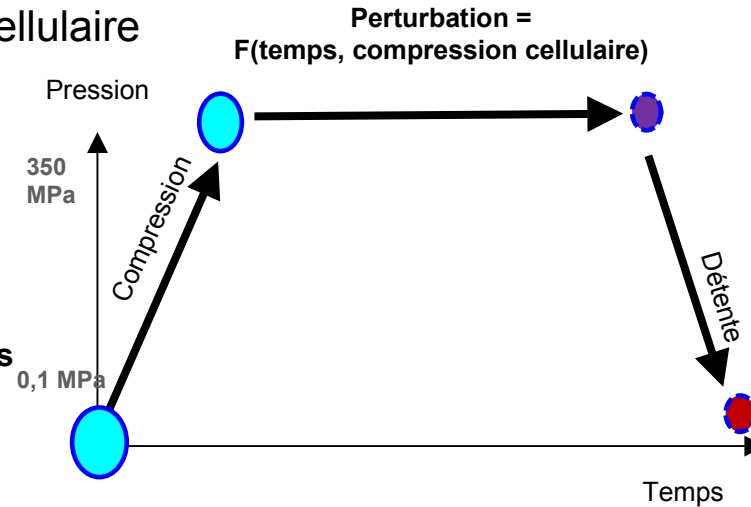
- Pression maximum : 400 MPa, Volume 1 ml
- Compatible objectif x100, confocal,
- Détente rapide...

● Compréhension des mécanismes de destruction cellulaire

○ En milieu liquide :

- Compression du cytoplasme (eau = compressible)
- Perméabilisation des cellules sous pression = variation de volume

Limite : Les microorganismes secs ne sont pas détruits



○ En milieu gaz :

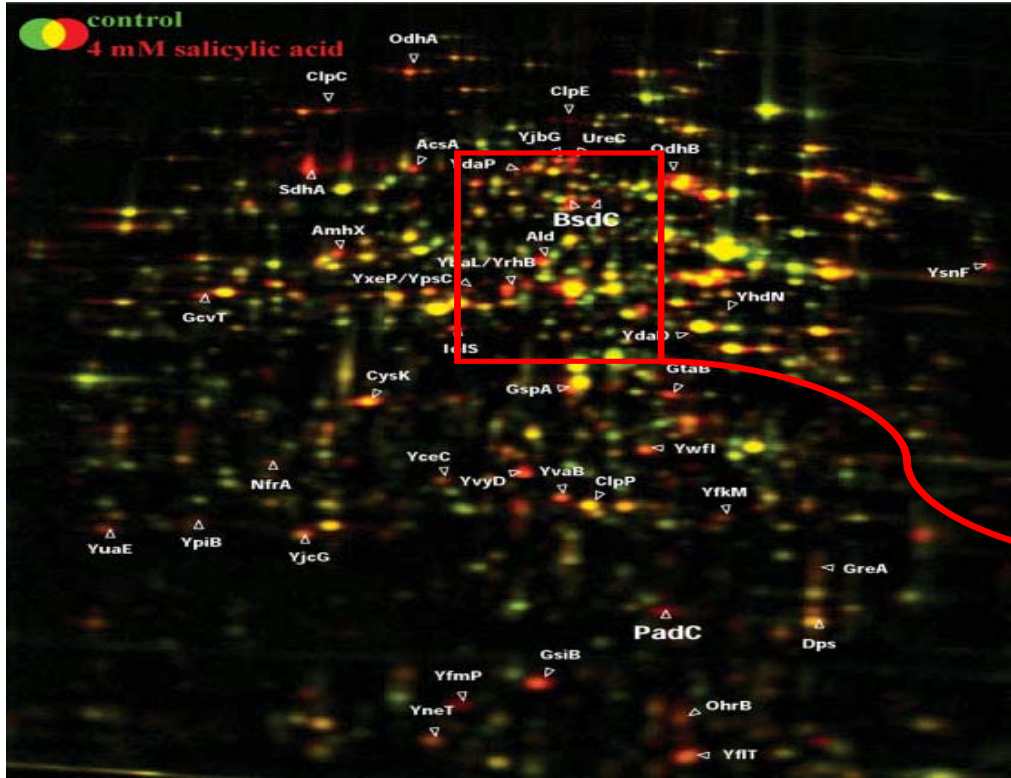
- La détente de gaz comprimé permet de **détruire les microorganismes secs** y compris les spores
- Les mécanismes identifiés sont liés aux cinétiques de sorption et de désorption du gaz
- Application : Stérilisation des épices

Réponses physiques aux perturbations environnementales extrêmes : Effet des hautes pressions

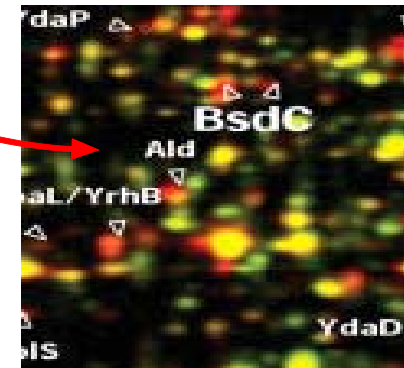
- Travaux en cours
 - Utilisation combinée HP et froid pour la préservation de cellules et de tissus
Grace à l'utilisation de températures inférieures à 0°C sans cristallisation de l'eau
 - Recherche de microorganismes barophiles présents sous forme dormante dans d'anciens sols marins
 - Utilisation de la pression comme outil de compréhension de la structure de la spore bactérienne

Réponses génétique et physiologique des microorganismes à des perturbations environnementales

Expression de gènes spécifiques au stress appliqué : acides phénols



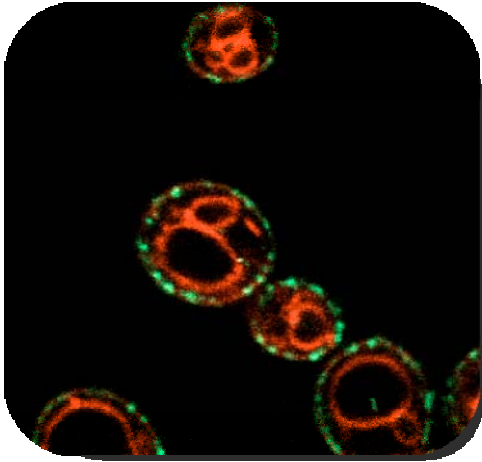
Électrophorèse bidimensionnelle des protéines cytoplasmiques de *B. subtilis* 168 avant (spots verts) et après (spots rouges) exposition des cellules à 4mM d'acide salicylique (concentration inhibitrice de la croissance). L'effet de l'acide salicylique se traduit par la surexpression de nombreuses protéines. On peut distinguer certains acides phénol décarboxylases (*PadC* et *BsdC*) qui interviennent dans les processus de décarboxylation et de détoxification.



- Mécanismes d'adaptation et de résistance
- Maîtrise de voies de régulation de la réponse génétique

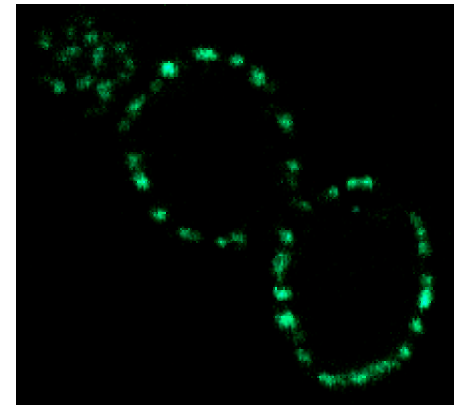
Plateau Imagerie Spectroscopique

Un outil de pointe créé et hébergé par GPMA



- 1 ingénieur
- Microscopie confocale spectrale
- Spectroscopie infra-rouge
- Spectroscopie de fluorescence
- Micromanipulation
- Micro-réacteurs (HP, T, mélangeurs)

- Application de **perturbations ciblées** dans le micro-environnement cellulaire
- **Analyse locale** de la structure cellulaire
- Étude de la **dynamique** des structures cellulaires



GPMA : Production 2006-2010

	Produits	Nombre
Qualité scientifique et production	Publications de « rang A »	81
	Publications dans des revues dont le facteur d'impact est dans le premier quartile de ceux la discipline	46
	Facteur d'impact moyen des publications	2,81
	Nombre de Publications par an et par chercheur (13 enseignants-chercheurs=6.5 ETP)	3,11
	Chapitres d'ouvrages	9
	Brevets	3
	Conférences invitées à des congrès internationaux	5
	Communications lors de congrès internationaux: Orales avec actes/sans acte	16/11
	Nombre de thèses soutenues/ en cours	21/10
	Rayonnement Attractivité	WP de projets européens coordonnés par l'unité
Programmes ANR coordonnés par l'équipe		2
Accueil de Post-Doctorant		5
Accueil de chercheurs étrangers		2
Experts PEDR/PES		2
Nombre de publications intégrant des collaborations internationales		26
Partenariats socioéconomiques	Articles dans des revues techniques ou professionnelles	5
	Thèses CIFRE terminées/en cours	2/2
	Thèses industrielles en cours co-financées par des partenaires socioéconomiques.	2
	Participations à des programmes FUI en lien avec des pôles de compétitivité	2
	Participation de membres de l'unité dans la gouvernance et les conseils (Vitagora, Welience, ...)	3

Compréhension des mécanismes des réponses cellulaires (réponses passives et adaptatives) à différents types de stress environnementaux

- **Multidisciplinarité**

- Génie des Procédés
- Biologie cellulaire et moléculaire

- **Thème 1 : Comprendre et modéliser les effets de différents stress sur des cellules microbiennes**

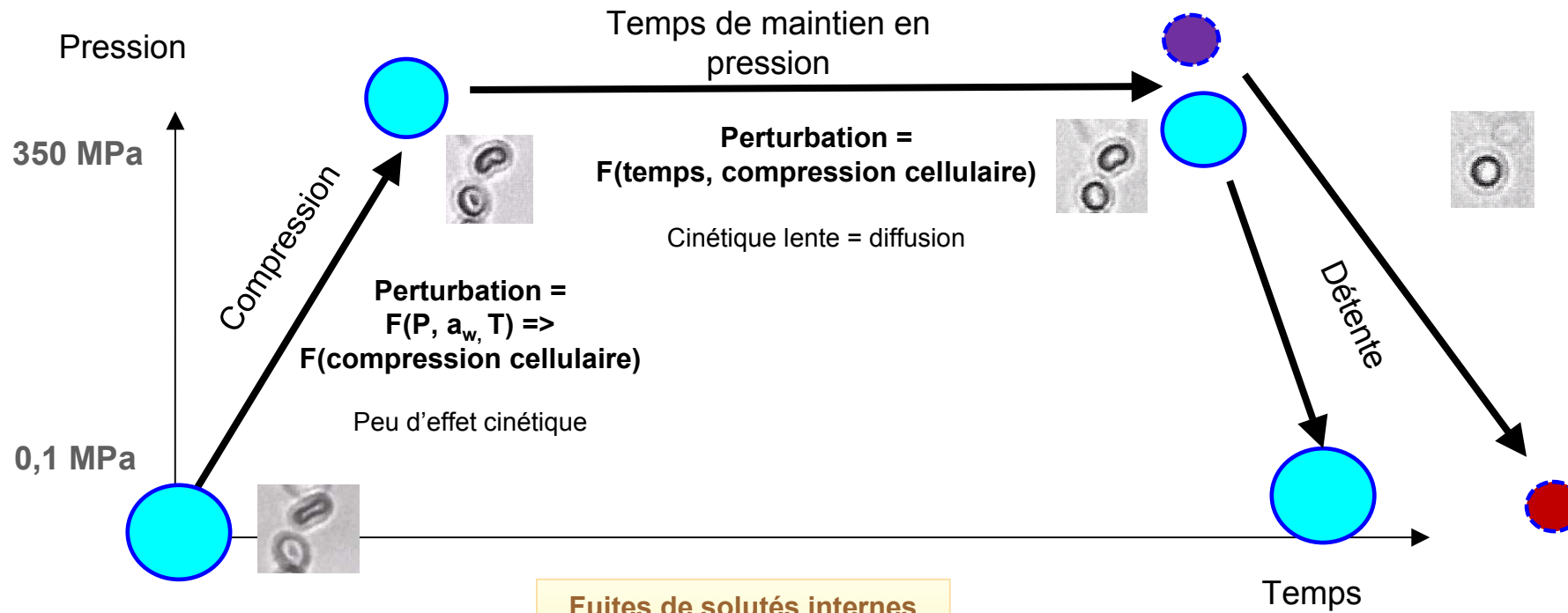
- Approfondir les connaissances sur les stress simples et leur régulation
- Étudier l'effet de stress combinés
- Comprendre les mécanismes impliqués dans la réponse de la membrane plasmique

- **Thème 2: Comprendre les mécanismes cellulaires de résistance et de développement en conditions extrêmes**

- La spore bactérienne
- Les piézophiles et les piézotolérants

- **Unité mixte de recherche AgroSup Dijon / Université de Bourgogne qui sera gérée par AgroSup Dijon**
- **Composée de 3 équipes**
 - Procédés Microbiologiques et Biotechnologiques (PMB: ex GPMA)
 - Vin – Aliments- Microorganismes – Stress (VALMIS: ex ReVV)
 - Procédés Alimentaires et PhysicoChimie (PAPC: ex EMMA)
- **38 Enseignants Chercheurs / 9 Ingénieurs et techniciens / 25 – 30 doctorants (45 ETP)**
 - 5 sections du CNU : 62, 64, 65, 68 et 39
- **1 projet scientifique commun (à côté des programmes spécifiques à chaque équipe):**
« Etude des mécanismes induits par des perturbations environnementales sur l'activité et la fonctionnalité de systèmes macromoléculaires et de microorganismes »
 - **Axe 1** : Nature, fonction et dynamique des réponses des microorganismes aux perturbations environnementales (environ 15 ETP)
 - **Axe 2** : Eau et fonctionnalité des systèmes biologiques (environ 12 ETP)
 - **Axe 3** : Structuration de matrices et vectorisation (environ 11 ETP).

Effets des hautes pressions en milieu liquide



Arrêt du métabolisme

Perméabilisation membranaire (réversible)

Dénaturation (réversible) de structures protéiques (cytosquelette)

Fuites de solutés internes

Entrée de soluté externes (toxique)

Variation du volume cellulaire (- avec paroi; + ss paroi)

Faible perméabilisation / temps court

Forte perméabilisation / temps long

Retour au volume initial

Survie

Mort cellulaire

Fortement liée à la compressibilité cellulaire