

Offre de thèse

CI3P : Contrôle et Intensification de la Production de PHA atypiques chez *Pseudomonas putida*

Laboratoire : Unité de Recherche Aliments Bioprocédés Toxicologie Environnement (UR ABTE) EA-4651, Equipe EcoTEA, Université de Caen Normandie, France (<http://abte.eu/>)

Financement : Conseil Régional de Normandie, 36 mois à partir de septembre 2021, salaire brut annuel : 21 k€.

Contexte :

Les préoccupations environnementales croissantes traduisent une attente sociétale forte et incitent les acteurs économiques à s'inscrire dans une démarche durable telle que la production et une offre diversifiée de biomatériaux alternatifs aux plastiques d'origine pétrolière. La Commission Européenne a traduit cette prise de conscience collective dans sa stratégie de 2018 par un objectif de réduction à l'horizon de 2029 de près de 90% de l'impact environnemental des matières plastiques pétrolières et la promotion des biomatériaux [1]. Parmi les molécules d'intérêt, les polyhydroxyalcanoates (PHA), plastiques biosourcés, biosynthétisés et biodégradables, constituent une alternative prometteuse [2]. Ce sont des polyesters de réserve, naturellement accumulés par certains genres bactériens (*Bacillus*, *Pseudomonas*, *Cupriavidus*...). Les PHA sont produits à partir de divers substrats carbonés naturels mais aussi, dans certains cas, à partir de molécules de synthèse comme le styrène [3] ou d'hydrolysats de lignine réputés récalcitrants [4]. L'insertion par voie bactérienne de groupes fonctionnels dans les PHA leur confère de nouvelles propriétés (thermomécaniques, de surface ou de réactivité chimique) permettant de diversifier l'utilisation de ces bioplastiques.

Les voies métaboliques impliquées dans la synthèse des PHA sont généralement activées en réponse à des déséquilibres nutritionnels, le plus souvent une limitation en azote, phosphore ou O₂ couplée à un relatif excès en substrat carboné. Le polyester est alors accumulé sous forme de granules pouvant représenter jusqu'à 90% de la masse sèche cellulaire.

Le genre *Pseudomonas*, notamment l'espèce *P. putida*, fait l'objet de nombreuses études en raison de sa capacité naturelle à produire des mcl-PHA très variés. En outre, des PHA atypiques ont pu être obtenus chez cette espèce à partir de substrats synthétiques issus de la dégradation de polymères pétroliers aromatiques ou aliphatiques [4]. Néanmoins, leur production industrielle demeure très limitée au regard de leur coût encore insuffisamment compétitif par rapport aux plastiques conventionnels [5].

[1] https://ec.europa.eu/commission/presscorner/detail/fr/IP_18_5.

[2] Anjum A. *et al.* Int J Biol Macromol. 2016 89:161-174. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2016.04.069.

[3] P. G. Ward *et al.* Environ. Sci. Technol. 2006 40:2433-2437. doi: 10.1021/es0517668.

[4] J.G. Linger *et al.* Proc Natl Acad Sci. 2014 111:12013-12018. doi: 10.1073/pnas.1410657111.

[5] Chanprateep S. J Biosci Bioeng. 2010 110:621-632. doi: 10.1016/j.jbiosc.2010.07.014

Objectifs :

Ce projet vise à développer des procédés de fermentation performants qui mettent en œuvre la bactérie *P. putida* en vue d'intensifier la valorisation de coproduits d'oléagineux et/ou du biodiesel en mcl-PHA. Il se focalisera sur deux problématiques principales.



La première consiste à valider, voire améliorer, le procédé de fermentation mis au point au laboratoire en vue d'intensifier la productivité en PHA à partir de substrats cibles déjà identifiés. Le procédé retenu est basé sur un mode de culture en FED-BATCH et met en œuvre une stratégie de conduite particulière. Cette phase vise à évaluer et, *in fine*, à maîtriser la réponse globale du procédé de fermentation en termes de production de PHA. Cette investigation doit permettre d'apprécier la robustesse/sensibilité du procédé, notamment vis-à-vis de la variabilité des substrats.

Le deuxième objectif poursuivi consiste à étudier les possibilités de fonctionnaliser, par voie bactérienne, les PHA en cours de biosynthèse (d'accumulation) en favorisant l'insertion de monomères atypiques. Ceux-ci pourront être présentés à la bactérie, seuls ou en cosubstrats. Des méthodes analytiques appropriées (spectrométrie de masse, RMN, IR...) permettront d'établir la réalité et le degré d'insertion du(es) monomère(s) atypique(s). L'abondance de ce composé dans le polymère sera étudiée sous différentes conditions d'exposition : concentration, apports continus ou séquentiels selon les phases de croissance en fermenteur. Les PHA ainsi synthétisés seront purifiés puis caractérisés de manière plus approfondie, notamment d'un point de vue "matériau polymère" (M_n , M_w , T_g , T_m , module de Young...).

Méthodes et techniques employées :

Techniques de microbiologie, fermentation avancée en bioréacteur instrumenté, spectroscopie IRTF, GC-MS, HPLC, plan d'expériences, traitement statistique des données, cinétiques et modélisations. D'autres analyses seront externalisées au sein de laboratoires et plateformes partenaires.

Profil du candidat :

Il/elle doit être ingénieur ou titulaire d'un Master 2 et posséder de solides connaissances en procédés de fermentation, calcul des bioréacteurs, bactériologie, méthodes analytiques et techniques de séparation de macromolécules intracellulaires. Une forte motivation pour la recherche et une bonne capacité à communiquer en anglais seront appréciées. Le dossier de candidature sous la forme d'un unique fichier PDF sera adressé par mail **avant le 5 juin 2021** aux référents indiqués ci-après. Il devra comprendre une lettre de motivation, un CV détaillé, les résultats obtenus en L3, M1 et M2 (ou équivalent), et les coordonnées complètes des encadrants de stages M1 et M2. Les candidats sélectionnés seront convoqués ultérieurement courant juin 2021.

Référents :

Directeur de thèse :	Pr. Ridha Mosrati	ridha.mosrati@unicaen.fr	Tél : 02 31 56 71 21
Co-encadrant :	Dr. David Corroler	david.corroler@unicaen.fr	Tél : 02 31 56 71 22

UR ABTE EA 4651 - Université de Caen Normandie
Campus 2 - Bât. Sciences 2 - Bd Maréchal Juin
14032 CAEN Cedex