

Projet Modélisation des BioProcédés

A rendre : rapport de groupe de 20 pages maximum répondant aux différents points listés ci-dessous ainsi que vos annexes (fichiers R). Une synthèse individuelle d'une page maximum sur votre rôle dans le groupe. Evaluation : la participation active aux séances, les réponses aux tests de compréhension du cours, le contenu et la présentation du document écrit seront pris en compte dans la notation.

Elaboration du modèle

Rappelons qu'un modèle mathématique classique de croissance dans un bioréacteur est le suivant

$$\begin{cases} \frac{d(xV)}{dt} = \mu(s)xV - F_{ex}x \\ \frac{d(sV)}{dt} = F_{in}s_{in} - F_{ex}s - \frac{\mu(s)}{Y_{x/s}}xV \end{cases} \quad (1)$$

où

$x(t)$ représente la biomasse à l'instant t ,

$s(t)$ le substrat à l'instant t ,

$\mu(s)$ le taux de croissance de la biomasse,

$Y_{x/s}$ le taux de conversion du substrat en biomasse, aussi appelé rendement, supposé constant

V le volume contenu dans le bioréacteur,

$s_{in} > 0$ la concentration en substrat dans l'alimentation supposée constante,

F_{in} et F_{ex} les flux entrant et sortant dans le bioréacteur, supposés constant.

En s'inspirant de cette modélisation, écrire un modèle d'équations différentielles pour décrire l'évolution de la concentration de la biomasse, d'un ou plusieurs substrats et d'un ou plusieurs produits dans un bioréacteur (le nombre de substrats et de produits devant correspondre à celui de votre projet de génie fermentaire ou culture cellulaire). Vous vous placerez dans un cadre général où le volume du bioréacteur peut ou non varier. Penser à définir tous vos paramètres et variables ainsi que leurs unités (pour les données de culture cellulaire, vous prendrez pour la biomasse comme unité le milliard de cellules par litre : 10^9 cell/l). C'est ce système d'équations différentielles qui servira de base constitutive aux travaux de modélisation. On fera toujours l'**hypothèse de constance des rendements** durant la culture.

Première partie : modélisation, simulation, calibration du modèle lors d'une culture sans échange avec l'extérieur :

dans ce qui suit, on considère une culture dans un fermenteur en batch, un Erlenmeyer, un spinner, ...

1. A partir de vos données expérimentales, déterminer tous les rendements relativement au substrat figurant dans votre modèle (en ne considérant que la phase exponentielle puis en considérant toutes les mesures) par une regression linéaire (droite des moindres carrés). On présentera les résultats dans un tableau (ne pas oublier les unités).
2. en considérant μ constant (croissance exponentielle)
 - (a) Faire des simulations : écrire un programme sous R permettant de tracer les solutions du modèle (courbe d'évolution de la biomasse, du substrat,...). On fixera des valeurs plausibles (d'un point de vue biologique) pour chacun des paramètres.
 - (b) Sélectionner, parmi vos données expérimentales, celles pouvant correspondre à ce modèle.
 - (c) Déterminer (à l'aide de R) les paramètres du modèle afin d'ajuster au mieux les données expérimentales sélectionnées (par la méthode des moindres carrés). Tracer les solutions obtenues (et le nuage de points expérimentaux), tracer les résidus. Commenter vos résultats.
3. Variations autour du taux de croissance μ :

- ✓ en considérant μ fonction de Monod simple : $\mu(s) = \frac{\mu_{max}s}{K_s + s}$ (dans le cas du TP de culture cellulaire, vous ne considèrerez que le substrat le plus limitant qui disparaît le premier).
 - i. Donner et étudier l'équation différentielle vérifiée par la biomasse (existence, unicité, points stationnaires, stabilité des points stationnaires, résolution ou étude géométrique, point d'inflexion éventuel, allure des trajectoires).
 - ii. Faire des simulations (cf modèle de Malthus).
 - iii. Déterminer (à l'aide de R) les paramètres du modèle à l'aide de vos données expérimentales (fitting) si cela est possible. Tracer les courbes théoriques ainsi obtenues et les nuages de points expérimentaux des différents métabolites. Si la détermination des paramètres n'est pas possible, essayer d'expliquer pourquoi (on veillera à ne pas surparamétrer le modèle).
- ✓ en considérant μ égal à une fonction parmi la liste ci-dessous :
 - Tessier $\mu(s) = \mu_{max}(1 - e^{-\frac{s}{K_s}})$.
 - Haldane-Andrews $\mu(s) = \frac{\mu_0 s}{K_s + s + \frac{s^2}{K_i}}$
 - Ming $\mu(s) = \frac{\mu_{max}s^2}{K_s + s^2}$
 - Moser $\mu(s) = \frac{\mu_{max}s^n}{K_s + s^n}$
 - Aiba $\mu(s) = \frac{\mu_{max}s}{K_s + s} e^{-\frac{s}{K_{i,s}}}$
 - Contois $\mu(s, x) = \frac{\mu_{max}s}{K_c x + s}$
 - (s'il y a lieu) μ fonction de Monod double : $\mu(s_1, s_2) = \mu_{max} \frac{s_1}{K_{s_1} + s_1} \frac{s_2}{K_{s_2} + s_2}$.
 - i. Faire l'étude mathématique de la fonction μ et mettre en évidence l'effet de ses paramètres à l'aide de graphes (vous pouvez utiliser Xcas pour cela).
 - ii. Etudier l'équation différentielle (existence, unicité, points stationnaires, stabilité des points stationnaires, résolution ou étude géométrique, point d'inflexion éventuel, allure des trajectoires, simulation avec R en prenant des valeurs de paramètres bien choisies). Quelles sont les différences avec le modèle de Monod s'il y en a ?

Seconde partie : étude d'un modèle de croissance lors du fonctionnement en continu

Nous repartons du modèle (1) auquel nous ajoutons un produit noté p . Dans ce qui suit, nous prendrons comme taux de croissance une fonction dite de Monod

$$\mu(s) = \frac{\mu_{max}s}{k_s + s}$$

où μ_{max} est le taux maximal de croissance, supposé constant et k_s la constante de demi-saturation.

1. Rappeler les conditions du fonctionnement en continu. En déduire une écriture simplifiée du modèle (1) pour (x, s, p) lorsque le bioréacteur fonctionne en continu. On introduira le paramètre, dilution, noté D , défini par $D = \frac{F_{in}}{V}$.
2. Faire l'étude mathématique du modèle : l'objectif de cette étude est en particulier de montrer qu'il existe un intervalle des dilutions pour lesquelles la population peut exister dans le chemostat.
 - (a) Justifier pourquoi on peut scinder l'étude en deux étapes : étude du système différentiel sur (x, s) puis étude de p . Dans ce qui suit, on fera l'étude mathématique du système sur (x, s) (et on tirera les conclusions pour les trois variables (x, s, p)).
 - (b) Etude de μ :
 - i. Tracer le graphe de μ sur \mathbb{R}_+ .
 - ii. Pour quelles valeurs de d a-t-on existence et unicité d'une solution s de l'équation $\mu(\bar{s}) = d$? Déterminer \bar{s} dans ce cas.
 - (c) Etude mathématique du système sur (x, s) :
 - i. Supposons que $D < \mu(s_{in})$.
 - A. Montrer que le système admet deux états stationnaires $E_{trivial} = (0, s_{in})$ et $E_{int} = (Y_{x/s}(s_{in} - \bar{s}), \bar{s})$ (déterminer \bar{s}).
 - B. Etudier les stabilités des 2 points stationnaires.
 - ii. Supposons $D > \mu(s_{in})$.
 - A. Montrer que le système n'admet plus dans \mathbb{R}_+^2 qu'un seul état stationnaire $E_{trivial} = (0, s_{in})$ (Indication : dans \mathbb{R}_+^2 signifie que les composantes de l'état stationnaire sont positives...ce qui est mieux quand il s'agit d'interpréter les résultats comme des concentrations!).

B. Etudier sa stabilité.

- (d) Conclure (rapidement) l'étude en prenant le produit en compte.
- (e) Faire des simulations numériques avec R mettant en valeur ces différents résultats. En particulier on cherchera à mettre en valeur la stabilité/instabilité des éventuels points stationnaires. On aussi pourra tracer les états stationnaires obtenus en fonction de valeurs de D. On prendra $\mu_{max} = 0.3$, $k_s = 0.18$, $s_{in} = 5$, $Y_{x/s} = 0.4$ ou vos valeurs expérimentales si vous en avez.
- (f) Donner une interprétation biologique des résultats obtenus.

Troisième partie : étude d'un cas particulier

- (a) Modèle de Luedeking-Piret : calibration
 - (b) Modèle de Luedeking-Piret : optimisation biomasse
 - (c) Modèle de Pirt : prise en compte de la maintenance
 - (d) Prise en compte de la mortalité
- ou Modèle en fed-batch : étude et simulations.

Bibliographie :

1. Site de cours qui peut être intéressant

Garnier : www.gch.ulaval.ca/.../Cinetique_cellulaire_non-structuree_AG0803.ppt

2. Des thèses

Thèse Duigou http://docnum.univ-lorraine.fr/public/SCDPHA_T_2010_DUIGOU_ARNAUD.pdf

Thèse Lobry : <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-00410686/document>

Thèse Arino : <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-00002006/document>

Thèse Lemesle : <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-00006502/document>

3. Deux livres pour aller un peu plus loin

Modélisation en biologie et en écologie d'Alain Pavé

Mathematical Models in Biology de Leah Edelstein-Keshet.

1. **Modèle de Luedeking-Piret : état stationnaire en fonction de la dilution**

Reprendre le modèle précédent en modifiant l'équation pour le produit en utilisant le modèle de Luedeking-Piret (cf cours génie fermentaire : on remplace $\mu Y_{p/x}$ par $\nu = \mu Y_{p/x} + \eta$). Le système que nous considérons ici est donc le suivant

$$\begin{cases} x' &= \mu(s)x - Dx, \\ s' &= -\frac{1}{Y_{x/s}}\mu(s)x + D(s_{in} - s), \\ p' &= (\mu(s)Y_{p/x} + \eta)x - Dp \\ x(0) &= x_0 > 0, \quad s(0) = s_0 > 0, \quad p(0) = 0 \end{cases}$$

Déterminer les deux états stationnaires du système $E_{triviale} = (0, s_{in}, 0)$ et $E_{int} = (\bar{x}, \bar{s}, \bar{p})$ et leur stabilité sous l'hypothèse $D < \mu(s_{in})$. On suppose que le système est à l'état stationnaire E_{int} . Etudier $E_{int} = (\bar{x}, \bar{s}, \bar{p})$ en fonction de D (en étudiant les fonctions $\bar{s}(D)$, puis $\bar{x}(D)$ et $\bar{p}(D)$) sur $]0; \mu_{max}[$. On tracera leurs courbes représentatives avec R ou Xcas (que l'on pourra commenter).

2. **Modèle de Luedeking-Piret : calibration**

Reprendre le modèle précédent en modifiant l'équation pour le produit en utilisant le modèle de Luedeking-Piret (cf cours génie fermentaire : on remplace $\mu Y_{p/x}$ par $\nu = \mu Y_{p/x} + \eta$). Le système que nous considérons ici est donc le suivant

$$\begin{cases} x' &= \mu(s)x - Dx, \\ s' &= -\frac{1}{Y_{x/s}}\mu(s)x + D(s_{in} - s), \\ p' &= (\mu(s)Y_{p/x} + \eta)x - Dp \\ x(0) &= x_0 > 0, \quad s(0) = s_0 > 0, \quad p(0) = 0 \end{cases}$$

Déterminer les deux états stationnaires du système $E_{triviale} = (0, s_{in}, 0)$ et $E_{int} = (\bar{x}, \bar{s}, \bar{p})$ et leur stabilité sous l'hypothèse $D < \mu(s_{in})$. On suppose que le système est à l'état stationnaire E_{int} . On définit la fonction f de la variable D par $f(D) = \frac{D\bar{p}}{\bar{x}}$. Montrer que f s'exprime en fonction $Y_{p/x}$ et η . En déduire une méthode expérimentale pour déterminer ces deux paramètres.

3. **Modèle de Luedeking-Piret : optimisation de la biomasse**

Reprendre le modèle précédent en modifiant l'équation pour le produit : utiliser le modèle de Luedeking-Piret (cf cours génie fermentaire : on remplace $\mu Y_{p/x}$ par $\nu = \mu Y_{p/x} + \eta$). Déterminer les deux états stationnaires du système $E_{triviale} = (0, s_{in}, 0)$ et $E_{int} = (\bar{x}, \bar{s}, \bar{p})$ et leur stabilité sous l'hypothèse $D < \mu(s_{in})$. On suppose que le système est à l'état stationnaire E_{int} . Montrer que la dilution maximum lorsque l'on cherche à optimiser (maximiser) la sortie de biomasse est $D_{max} = \mu_{max}(1 - \sqrt{\frac{k_s}{k_s + s_{in}}})$. On pourra étudier la fonction $f(D) = D\bar{x}$.

4. **Prise en compte de la mortalité**

On reprend le modèle précédent. Mais si le temps de résidence dans le chemostat est supérieur à la durée de vie moyenne d'une cellule, il y a mortalité cellulaire (au taux m) dans le chemostat et celle-ci doit être prise en compte. Justifier que le système peut s'écrire

$$\begin{cases} x' &= \mu(s)x - (D + m)x, \\ s' &= -\frac{1}{Y_{x/s}}\mu(s)x + D(s_{in} - s), \\ x(0) &= x_0 > 0, \quad s(0) = s_0 > 0. \end{cases}$$

Déterminer les états d'équilibre et leurs stabilités respectives. Comparer avec les résultats précédents.

Vos résultats sont-ils en accord avec la conclusion suivante ? "L'introduction de la mortalité a pour effet de réduire l'intervalle des dilutions pour lesquelles la population peut exister dans le chemostat mais ne modifie pas outre mesure le comportement du système si ce n'est en abaissant la valeur d'équilibre de la population". Vous pourrez faire des simulations numériques.

5. **Modèle de Pirt : prise en compte de la maintenance :**

Reprendre le modèle précédent en prenant en compte l'énergie de maintenance $m > 0$, l'énergie consommée par la biomasse pour des besoins autres que la croissance (respiration,...). On suppose que les cellules n'utilisent pas l'intégralité du substrat qu'elles prélèvent pour leur croissance. Justifier que le système peut s'écrire

$$\begin{cases} x' &= \mu(s)x - Dx, \\ s' &= -\frac{1}{Y_{x/s}^{app}}\mu(s)x + D(s_{in} - s), \\ x(0) &= x_0 > 0, \quad s(0) = s_0 > 0. \end{cases}$$

où m est la maintenance, en posant

$$\frac{1}{Y_{x/s}^{app}} = \frac{1}{Y_{x/s}} + \frac{m}{\mu}$$

En déduire comment déterminer m à partir d'un graphique avec des expériences réalisées en continu (cf thèse de Lobry).