

Transport bio-réactif dans une assemblée de levures sous contraintes environnementales

Olivier Liot, Morgan Delarue (LAAS-CNRS)

La compréhension du biocolmatage est un enjeu majeur pour la performance des procédés de filtration et, plus largement, pour la compréhension des milieux biologiques proliférants soumis à des contraintes mécaniques. En effet, un dépôt de levures à la surface d'une membrane de filtration utilisée pour la clarification de la bière, une tumeur et le cerveau ont en commun d'être des milieux poreux déformables et réactifs. Dans les trois cas les nutriments nécessaires à la prolifération cellulaire sont transportés par une phase fluide dans le milieu interstitiel et permettent la croissance du milieu ou son fonctionnement. La consommation des nutriments par les cellules peut entraîner l'apparition de gradients de nutriments dans le milieu et une réponse hétérogène de ce dernier. De plus, ces milieux poreux sont soumis à des contraintes mécaniques dues soit au changement des conditions opératoires ou physiologiques (variation de la pression du fluide), soit au confinement mécanique. Des gradients de contraintes peuvent alors apparaître ce qui peut affecter l'écoulement et le transport dans le milieu [1].

La description de ces gradients de contraintes environnementales (nutriments, mécanique) et du transport associé lorsque les forçages mécaniques varient sont un enjeu majeur dans la compréhension du fonctionnement et de la réponse des tumeurs, du cerveau et dans l'amélioration de la biofiltration et plus généralement des bioprocédés. Il a par exemple été prouvé qu'un forçage périodique en pression sur un milieu poreux déformable favorise le passage de soluté au travers de ce milieu [2]. Des forçages mécaniques variables pourraient également favoriser l'élimination des déchets par le cerveau. Scientifiquement, c'est un problème qui est à la convergence entre le transport en milieux poreux, la poromécanique, les milieux bio-réactifs et la biophysique des cellules soumises à des contraintes externes.

Cette proposition de thèse s'inscrit dans la suite de travaux menés sur le biocolmatage par des levures *Saccharomyces cerevisiae* dans des puces microfluidiques depuis 6 ans. Nous avons développé une plateforme microfluidique dédiée à l'étude du biocolmatage par des levures, incluant notamment un débitmètre sur puce permettant de mesurer des débits inférieurs à 10 nL/min [3]. Cela permet un contrôle fin des conditions d'écoulement et du confinement au sein de bouchons de levures. Dans ce cadre, l'impact de la pression fluide sur la perméabilité de bouchons de levures non proliférantes a été mesuré et modélisé, ainsi que des couplages entre poromécanique et confinement (grâce à la friction aux parois) [4] tout en proposant un cadre théorique [5]. Plus récemment, des expériences sur des bouchons proliférants ont permis de cartographier la prolifération au sein du bouchon et de montrer un fort couplage entre les variations de pression appliquée et la réponse biologique. Ces résultats mettent en évidence une boucle de rétroaction entre croissance, diminution de débit, apparition d'un gradient de nutriments et hétérogénéité de la prolifération cellulaire, et ont conduit à l'élaboration d'un premier modèle continu de bouchon perfusé en croissance. Les travaux de Morgan Delarue au LAAS-CNRS ont par ailleurs mesuré l'impact de la compression mécanique sur la prolifération des levures, impliquant un potentiel couplage entre compression des cellules et gradient de prolifération [6]. La thèse proposée s'inscrit dans cette dynamique en visant à mesurer de manière quantitative les gradients de nutriments et de contraintes dans ces milieux poreux déformables réactifs et à relier ces gradients à la prolifération locale et à la croissance globale.

Le verrou scientifique principal est de comprendre comment les gradients de contraintes mécaniques et de nutriments s'établissent et interagissent dans un milieu poreux déformable en croissance, et comment ils contrôlent localement la prolifération des levures et globalement la croissance du milieu poreux. L'objectif de cette thèse est d'établir un cadre expérimental permettant de mesurer et de relier ces gradients dans un bouchon de levures perfusé, qui est un modèle de milieu poreux biologique réactif déformable. Cette thèse visera **(i) à quantifier conjointement le transport de fluide, les gradients de déformation et les**

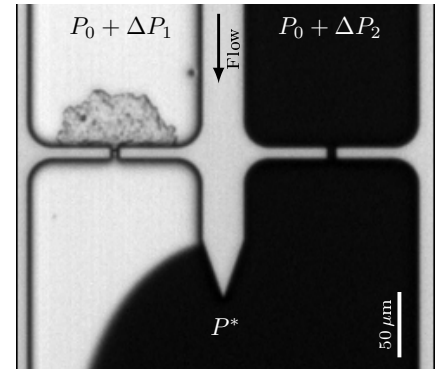


Figure 1: Image d'un bouchon de levures observé en microscopie (canal de gauche) couplé à une mesure in-situ du débit qui le traverse. Le milieu contenant les nutriments est injecté à une pression fixe tandis qu'à droite, un liquide coloré permet d'opérer une comparaison des débits dans la partie basse du dispositif.

gradients de nutriments dans un bouchon de levures proliférantes perfusé, (ii) à mesurer l'impact des contraintes mécaniques sur la consommation de nutriments et la prolifération locale, et (iii) à caractériser les échelles de temps et la structure des couplages entre (poro)mécanique, transport et croissance.

Pour atteindre ces objectifs nous nous appuierons sur une approche principalement expérimentale, basée sur la microfluidique, qui permet de travailler dans des environnements physico-chimiques et de contraintes bien contrôlés. Nous utiliserons les levures *Saccharomyces cerevisiae*, qui sont des microorganismes modèles et dont les propriétés biologiques et mécaniques individuelles sont bien connues. La thèse se déroulera en 3 phases.

1. Mesure du débit à travers le bouchon proliférant et de sa perméabilité afin de décrire le transport du fluide dans le bouchon pour différentes pressions appliquées (et donc différentes contraintes mécaniques), fixes ou variables.
2. Mesure de la consommation de glucose dans le bouchon. Le glucose étant un des nutriments les plus importants, nous nous focaliserons dans un premier temps sur ce métabolite. Trois pistes sont envisagées :
 - (a) La levure possède différentes molécules permettant le transport intracellulaire du sucre, et qui ont différentes affinités : certaines sont exprimées lorsqu'il y a beaucoup de sucre (Hxt1) et d'autre quand il y en a moins (Hxt7) [7]. Nous utiliserons des souches de levures nous permettant de visualiser ces molécules, ce qui nous permettra d'établir visuellement le gradient de sucre, et de voir comment celui-ci dépend des contraintes.
 - (b) Le développement de designs microfluidiques innovants permettront de prélever localement et en temps réel du fluide interstitiel le long du bouchon, à des fins de dosage.
 - (c) L'utilisation de nutriments fluorescents dégradés par les levures pourront également permettre une mesure locale de la concentration dans le fluide interstitiel par mesure de la fluorescence résiduelle.

Dans les 3 cas, la résolution spatiale attendue est de quelques diamètres de levure.

3. Application de forçages fluides variables (rampes périodiques de compression/décompression) et mesure de la consommation de glucose le long du gradient de contraintes. Le croisement avec les données sur le transport de nutriments permettra de mettre en lumière d'éventuels couplages entre gradient de contraintes et gradient de nutriments et d'identifier des lois empiriques. Les résultats obtenus serviront à alimenter les efforts de modélisation actuels.

Cette thèse sera co-encadrée entre l'Institut de Mécanique des Fluides de Toulouse, un laboratoire de renommée mondiale en mécanique des fluides, et le LAAS-CNRS, un laboratoire de renommée internationale dans le domaine des micro- et nanosystèmes, en particulier appliqués aux études en biophysique. Les travaux s'appuieront sur les développements expérimentaux déjà effectués, sur la plateforme de microscopie du laboratoire (salle Oryx, BioPorousLab) mais aussi sur les outils de microfabrication pour le prototypage de puces microfluidiques. Le LAAS-CNRS, via sa plateforme de microfabrication (puces de haute qualité) et un environnement favorable en termes de microbiologie sera un apport fort au projet. Des interactions avec le TBI sont également envisagées, notamment pour le titrage des espèces consommées par les levures. Le ou la doctorante bénéficiera d'un encadrement pluridisciplinaire (mécanique des milieux poreux, microfluidique, microbiologie) au sein d'un écosystème collectif dynamique (FERMaT, LAAS, TBI).

La rémunération brute mensuelle sera de 2300€, incluant les cotisations à la sécurité sociale. Le ou la doctorante aura la possibilité de faire des activités d'enseignement rémunérées en sus. Le ou la doctorante bénéficiera de 51 jours de congés payés pour un temps de travail hebdomadaire de 37h30.

Pour candidater, merci d'envoyer un CV et un ou des contacts de recommandation à olivier.liot@imft.fr et morgan.delarue@laas.fr.

Bio-reactive transport in yeast assemblies under environmental constraints

Olivier Liot, Morgan Delarue (LAAS-CNRS)

Understanding bioclogging is a major challenge for the performance of filtration processes and, more broadly, for the understanding of proliferating biological media subjected to mechanical constraints. Indeed, a yeast deposit at the surface of a filtration membrane used for beer clarification, a tumour, and the brain all share the common feature of being deformable and reactive porous media. In all three cases, nutrients required for cellular proliferation are transported by a fluid phase through the interstitial medium and sustain either the growth or the functioning of the system. Nutrient consumption by the cells may lead to the emergence of nutrient gradients within the medium and to a heterogeneous response of the latter. Furthermore, these porous media are subjected to mechanical constraints arising either from changes in operating or physiological conditions (variations in fluid pressure) or from mechanical confinement. Stress gradients may then emerge, potentially affecting flow and transport within the medium [1].

The description of these environmental constraint gradients (nutrient and mechanical) and the associated transport under varying mechanical forcings constitutes a major challenge for understanding the functioning and response of tumors and the brain, as well as for improving biofiltration and, more generally, bioprocesses. For instance, it has been demonstrated that periodic pressure forcing applied to a deformable porous medium enhances solute transport through the medium [2]. Time-dependent mechanical forcing may also promote waste clearance in the brain. Scientifically, this problem lies at the intersection of transport in porous media, poromechanics, bio-reactive media, and the biophysics of cells subjected to external constraints.

This PhD proposal builds upon six years of research devoted to bioclogging by *Saccharomyces cerevisiae* yeasts in microfluidic chips. We have developed a microfluidic platform dedicated to the study of yeast bioclogging, including an on-chip flowmeter capable of measuring flow rates below 10 nL/min [3]. This enables precise control of flow conditions and confinement within yeast clogs. In this context, the impact of fluid pressure on the permeability of non-proliferating yeast clogs has been measured and modeled, together with couplings between poromechanics and confinement (through wall friction) [4], while also providing a theoretical framework [5]. More recently, experiments on proliferating clogs have enabled mapping of proliferation within the clog and revealed a strong coupling between variations in applied pressure and the biological response. These results highlight a feedback loop between growth, flow rate reduction, nutrient gradient formation, and heterogeneity in cell proliferation, and have led to the development of a first continuum model of a growing perfused clog. In parallel, Morgan Delarue's work at LAAS-CNRS has quantified the impact of mechanical compression on yeast proliferation, suggesting a possible coupling between cell compression and proliferation gradients [6]. The proposed PhD project is part of this research effort and aims at quantitatively measuring nutrient and stress gradients in these reactive deformable porous media and relating them to local proliferation and global growth.

The main scientific challenge is to understand how mechanical stress gradients and nutrient gradients establish and interact within a growing deformable porous medium, and how they locally control yeast proliferation and globally control the growth of the porous medium. The objective of this PhD project is to establish an experimental framework allowing these gradients to be measured and related within a perfused yeast clog, considered here as a model reactive deformable biological porous medium. This PhD project will aim **(i) to jointly quantify fluid transport, deformation gradients, and nutrient gradients within a perfused proliferating yeast clog, (ii) to measure the impact of mechanical constraints on nutrient consumption and local proliferation, and (iii) to characterize the timescales and coupling structure between (poro)mechanics, transport, and growth.**

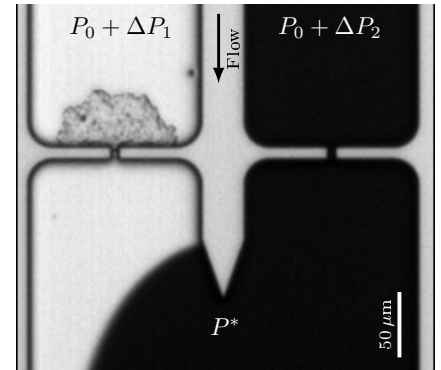


Figure 2: Microscopy image of a yeast clog (left channel) coupled with an in-situ measurement of the flow rate through the clog. The nutrient-containing medium is injected at constant pressure, while on the right, a dyed liquid allows comparison of the flow rates in the lower part of the device.

To achieve these objectives, we will rely on a primarily experimental approach based on microfluidics, which

allows work in well-controlled physico-chemical and mechanical environments. We will use *Saccharomyces cerevisiae* yeasts, which are model microorganisms whose individual biological and mechanical properties are well characterized. The PhD project will be organized into three phases.

1. Measurement of the flow rate through the proliferating clog and its permeability in order to characterize fluid transport within the clog under different applied pressures (and therefore different mechanical constraints), either constant or time-dependent.
2. Measurement of glucose consumption within the clog. Since glucose is one of the most important nutrients, we will initially focus on this metabolite. Three approaches are envisaged:
 - (a) Yeast cells possess different molecules enabling intracellular sugar transport, with different affinities: some are expressed at high sugar concentrations (Hxt1), while others are expressed at lower concentrations (Hxt7) [7]. We will use yeast strains allowing visualization of these molecules, enabling direct observation of the sugar gradient and its dependence on mechanical constraints.
 - (b) The development of innovative microfluidic designs will enable local and real-time sampling of the interstitial fluid along the clog for concentration measurements.
 - (c) The use of fluorescent nutrients degraded by yeasts may also enable local measurements of concentration within the interstitial fluid through residual fluorescence measurements.

In all three cases, the expected spatial resolution is of the order of a few yeast diameters.

3. Application of time-dependent fluid forcings (periodic compression/decompression ramps) and measurement of glucose consumption along the stress gradient. Combining these measurements with nutrient transport data will help reveal possible couplings between stress gradients and nutrient gradients and identify empirical laws. The obtained results will feed ongoing modeling efforts.

This PhD project will be shared between Fluid Mechanics Institute of Toulouse, a world-leading laboratory in fluid mechanics and and LAAS-CNRS, a world-leading laboratory on micro and nanosystems, especially applied to biophysics studies. The work will build upon the experimental developments already achieved, the laboratory microscopy platform (Oryx room, BioPorousLab), as well as microfabrication tools for prototyping microfluidic chips. LAAS-CNRS, through its microfabrication platform (high-quality chips) and its favorable microbiology environment, will provide a strong contribution to the project. Interactions with TBI are also envisaged, particularly for the quantification of species consumed by the yeasts. The PhD candidate will benefit from multidisciplinary supervision (porous media mechanics, microfluidics, microbiology) within a dynamic collaborative ecosystem (FERMaT, LAAS, TBI).

The gross monthly salary will be 2300€, including social security contributions. The PhD candidate will have the opportunity to undertake remunerated teaching activities. The PhD candidate will benefit from 51 days of paid leave for a weekly working time of 37h30.

To apply, please send a CV and one or more reference contacts to olivier.liot@imft.fr and morgan.delarue@laas.fr.

- [1] M. Fiori, S. Pramanik, and C. W. MacMinn, “Solute transport due to periodic loading in a soft porous material,” *Journal of Fluid Mechanics*, vol. 1009, p. A15, Apr. 2025.
- [2] D. Alcaide, A. Bancaud, J. Cacheux, and Y. Matsunaga, “Pulsatile pressure actuation enhances solute clearance in engineered vasculature through strain accumulation–release,” Jan. 2026.
- [3] T. Desclaux, L. Santana, I. Verdeille, P. Duru, P. Joseph, M. Delarue, and O. Liot, “Hydrodynamic resistance of a yeast clog,” *Physical Review Fluids*, vol. 9, p. 034202, Mar. 2024.
- [4] T. Desclaux, *Levures et Microfluidique : Étude Du Biocolmatage Avec Des Objets Modèles*. These de doctorat, Toulouse, INPT, Nov. 2023.
- [5] T. Desclaux, C. Cuttle, C. W. MacMinn, and O. Liot, “Friction modifies the quasistatic mechanical response of a confined, poroelastic medium,” Dec. 2025.
- [6] B. Alric, C. Formosa-Dague, E. Dague, L. J. Holt, and M. Delarue, “Macromolecular crowding limits growth under pressure,” *Nature Physics*, vol. 18, pp. 411–416, Apr. 2022.

- [7] Z. S. Marinkovic, C. Vulin, M. Acman, X. Song, J.-M. Di Meglio, A. B. Lindner, and P. Hersen, “A microfluidic device for inferring metabolic landscapes in yeast monolayer colonies,” *eLife*, vol. 8, p. e47951, July 2019.