

Microbiële gemeenschappen spelen een belangrijke rol in de maatschappij. Zij reinigen bijvoorbeeld afvalwater en helpen ons om ons voedsel af te breken. Om hun prestaties te verbeteren, is een beter begrip van de onderlinge relaties en interacties tussen de bacterie soorten nodig. Daarom zijn microbiële gemeenschappen en hun interacties intensief bestudeerd. Echter, een van de uitdagingen is dat de meeste microbiële soorten in een ecosysteem niet te cultiveren is en daardoor kennen wij niet de metabole capaciteiten van de meesten. Gelukkig stelt het volledig sequencen van het genoom van een soort ons in staat om inzicht te krijgen in zijn metabole potentiaal zonder dat fenotypische data nodig is. Tegenwoordig kan al het DNA van een microbiële gemeenschap gesequenced worden, het zogenaamde metagenoom, en dit levert nuttige informatie op over de microbiële gemeenschap. Het levert een schat aan informatie, maar het werk in dit proefschrift is uitgevoerd met de gedachte dat nog meer informatie uit deze metagenoom data gehaald kan worden. We deden dit door experimentele data te integreren met genome-scale metabole modellen.

Genome-scale metabole modellen worden gecreëerd op basis van genomische informatie van een microbe en bevat de volledige set van metabole reacties uitgedrukt in stochiometriën waar de kinetiek van deze reacties weggelaten wordt. Al zijn dit soort modellen relatief simpel, ze zijn erg belangrijk voor de studie van pure culturen om, bijvoorbeeld, doelwitten te vinden voor metabolic engineering strategieën. Aangezien deze modellen zo succesvol waren voor studies van pure culturen, hebben ze ook de potentie om een belangrijk middel te zijn voor de studie van microbiële gemeenschappen. Daarom hebben we onderzocht hoe nuttig deze genome-scale metabole modellen zijn in het bestuderen van microbiële gemeenschappen. We testten verschillende microbiële ecosystemen om te begrijpen wat de sterke en zwakke punten zijn van deze modelleer aanpak.

In **hoofdstuk 1** geven we een algemene inleiding over microbiële ecologie. We beschrijven welke technieken gebruikt worden om fundamentele vragen in dit veld te kunnen beantwoorden. Ook leggen we uit wat de potentie van de genome-scale metabole modellen zijn in het bestuderen van microbiële gemeenschappen, met de nadruk op een vaak gebruikte methode genaamd Flux Balans Analyse (FBA). We vatten kort samen welke vragen beantwoord kunnen worden met deze methode en hoe synthetische ecosystemen kunnen helpen bij het begrijpen van natuurlijke microbiële ecosystemen.

In **hoofdstuk 2** leggen we in meer detail uit hoe wij denken dat modelleren van het metabolisme ons kan helpen om microbiële gemeenschappen beter te begrijpen. Wij betogen dat de hoeveelheid detail in het model afhankelijk is van het ecosysteem en de onderzoeksvraag die men probeert te beantwoorden. Ook denken wij dat metabole modellen een belangrijk middel is voor data integratie, vooral voor het bepalen van metabole interactions op basis van experimentele data.

Een van de voordelen van een genome-scale metabool model is dat verschillende hypotheses getest kunnen worden *in silico* die erg moeilijk *in vivo* te testen zijn. Wij testten verschillende hypotheses met betrekking tot vrije energie transductie in de methanogeen *Methanosaeta concilii* in **hoofdstuk 3**. Het is onbekend welke strategie *M. concilii* gebruikt voor zijn energie conservatie en daarom zijn verschillende hypotheses opgesteld. Uit onze *in silico* analyse concluderen wij dat de meest waarschijnlijke scenario is dat *M. concilii* een efficiëntere proton en natrium ion translocatie eiwitten heeft ten opzichte van andere methanogenen. We benadrukken ook het belang van de biomassa samenstelling in het genome-scale metabool model voor een accurate voorspelling van de groeisnelheid.

In **hoofdstuk 4** testten we of het mogelijk was om het fenotype van *Clostridium acetobutylicum* te voorspellen in een co-cultuur met een genome-scale metabool model. De interactie tussen *C. acetobutylicum* en andere soorten is gebaseerd op waterstof uitwisseling en we zagen verschillen in het metabolisme van *C. acetobutylicum* wanneer H₂ snel werd verwi-

ijderd door de andere soorten. Dit fenotype kon niet voorspeld worden door de genome-scale metabool model en extra kinetische parameters moesten geïmplementeerd worden om het gedrag van *C. acetobutylicum* correct te simuleren. Duidelijk, maar ook niet verrassend, kan fenotypisch gedrag van een soort in pure cultuur niet geëxtrapoleerd worden voor het gedrag van dezelfde soort in een microbiële gemeenschap met behulp van genome-scale metabole modellen. Echter, de modellen kunnen wel nuttig zijn om het fenotypisch gedrag te verklaren; ze kunnen gebruikt worden voor het bepalen van metabole interactions in een microbiel ecosysteem. Daarom hebben we *C. acetobutylicum* en *Wolinella succinogenes* geco-cultiveerd onder verschillende condities om te onderzoeken wat de impact is op H₂ uitwisseling in **hoofdstuk 5**. We integreerden experimentele data met de computer modellen om de metabole interacties in de gemeenschap te kunnen bepalen. We laten met deze aanpak zien dat de stikstofbron de snelheid van H₂ uitwisseling tussen de twee soorten beïnvloed en dit kan niet worden geconcludeerd op basis van alleen de experimentele data. Deze studie laat succesvol zien dat integratie van experimentele data met een modelleer aanpak resulteert in het bepalen van metabole interacties in een microbiel ecosysteem.

In voorgaande hoofdstukken werkten we aan synthetische ecosystemen waar we de interacties tussen de soorten zelf konden bepalen. In **hoofdstuk 6** werkten we met een complexere en natuurlijke ecosysteem: een yoghurt co-cultuur bestaande uit *Streptococcus thermophilus* en *Lactobacillus bulgaricus*. Als eerste hebben we een evolutie experiment met *S. thermophilus* en *L. bulgaricus*, die geen verleden met elkaar hadden, uitgevoerd. We onderzochten of de soorten de interacties tussen elkaar zouden verbeteren tijdens aangepaste evolutie. The geëvolueerde co-cultuur ontwikkelde enkele industrieel interessante eigenschappen en van de genoom, transcriptoom data en het metabool modelleren van de co-cultuur concludeerden wij dat de co-cultuur de interacties gerelateerd aan aminozuur en purine metabolisme verbeterd had.

In het laatste hoofdstuk (**hoofdstuk 7**) bediscussiëren wij de impact van genome-scale metabole modellen en synthetische ecosystemen voor het bestuderen van microbiële gemeenschappen. We hebben laten zien in dit proefschrift dat genome-scale metabole modellen erg nuttig zijn voor het bestuderen van pure culturen, het onderzoeken van potentiële interacties tussen verschillende soorten en het bepalen van metabole interacties van simpele synthetische ecosystemen. Echter, het bepalen van metabole interacties in complexe microbiële gemeenschappen is veel moeilijker en het succes is afhankelijk van het ecosysteem en de experimentele data dat geïntegreerd moet worden. Globaal gezien zijn genome-scale metabole modellen een erg krachtig hulpmiddel in de studie van microbiële ecosystemen.