

## **CHAPTRE 5/6: MECANISMES MOLECULAIRES du CYCLE CELLULAIRE MICROBIEN, BIOSYNTHESE et CROISSANCE BACTERIENNE**

### **1. Introduction**

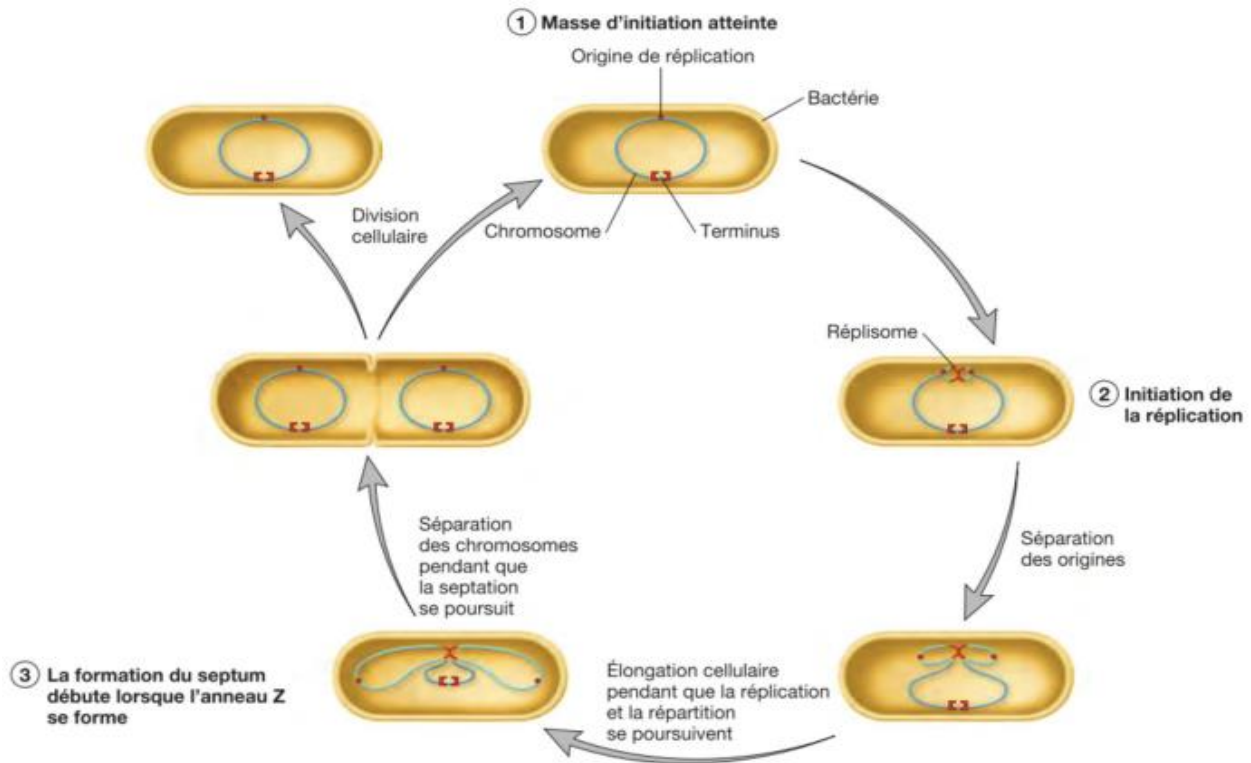
Le cycle cellulaire est la séquence complète des événements depuis la formation d'une nouvelle cellule jusqu'à la division suivante. C'est un processus biologique fondamental qui présente un intérêt intrinsèque. Mais la compréhension du cycle cellulaire a également un intérêt pratique.

Les cycles cellulaires de plusieurs bactéries (*E. coli*, *B. subtilis*, *Caulobacter crescentus*, une bactérie aquatique) ont fait l'objet d'études considérables et notre compréhension du cycle cellulaire est largement basée sur ces études. Le cycle cellulaire bactérien comprend trois phases : (1) une période de croissance après la « naissance » de la cellule; (2) la période de réplication et de répartition du chromosome; et (3) la cytokinèse durant laquelle il y a formation du septum et des cellule filles (Fig. 01). La réplication et la ségrégation du chromosome bactérien se produisent simultanément. En outre, les événements initiaux de la cytokinèse surviennent réellement avant que la réplication et la ségrégation du chromosome soient complètes. Enfin, certaines bactéries en division rapide sont capables d'initier de nouveaux cycles de réplication avant que le premier cycle de réplication et de cytokinèse ne soit terminé.

### **2. Réplication et répartition du chromosome**

La plupart des bactéries ont un seul chromosome circulaire. Chaque chromosome circulaire a un site unique où débute la réplication et appelé **origine de réplication** ou plus simplement origine (Fig. 01). La réplication s'achève au site de terminaison, qui est situé directement à l'opposé de l'origine. Dans une cellule d'*E.coli* nouvellement formée, le chromosome est compacté et organisé de manière à ce que l'origine et le site de terminaison soient dans les moitiés opposées de la cellule. Au début du cycle cellulaire, l'origine et le site de terminaison se déplacent vers le milieu de la cellule et un groupe de protéine nécessaires à la synthèse de l'ADN s'assemblent au niveau de l'origine. Cette machinerie de synthèse de l'ADN est désignée comme le **réplisome**. La

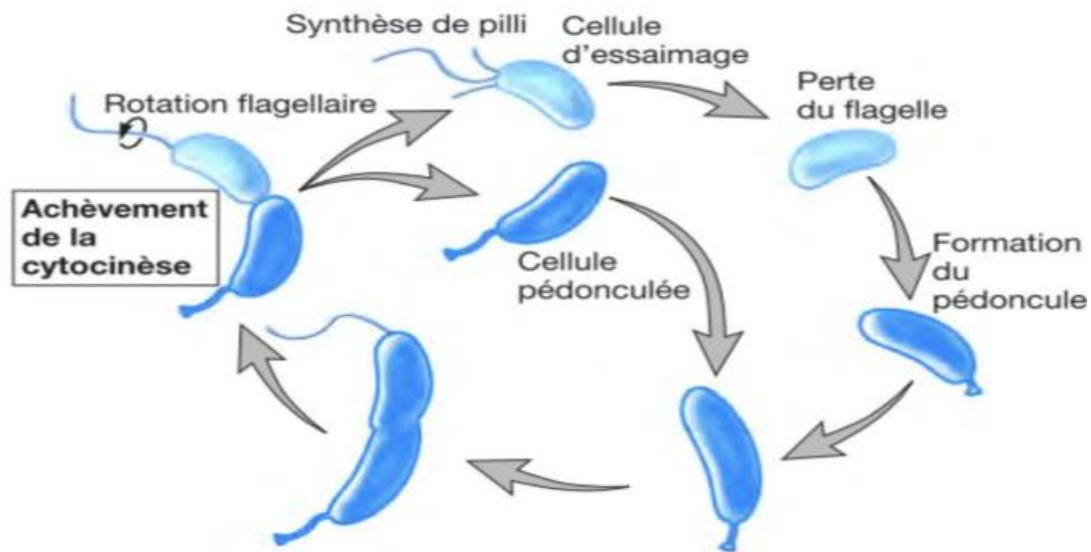
réplication de l'ADN se fait dans les deux directions depuis l'origine. Les deux origines se déplacent vers les pôles opposés de la cellule pendant que les deux chromosomes fils sont synthétisés et le reste du chromosome suit de manière ordonnée.



**Figure 7.3** Le cycle cellulaire chez *E. coli*. L'initiation du cycle cellulaire est due à une augmentation de la masse d'une cellule qui résulte également de l'accumulation de la protéine DnaA qui initie la réplication de l'ADN. Pendant que la cellule se prépare pour la réplication de l'ADN, l'origine migre vers le centre de la cellule et les protéines constituant le réplisome s'assemblent. Dans ce schéma, un cycle de réplication de l'ADN est complété avant la division de la cellule. Dans les cultures en croissance rapide (des temps de génération d'environ 20 minutes), un second et un troisième cycle de réplication de l'ADN sont initiés avant que la division de la cellule originale soit complète. Les cellules filles héritent donc d'ADN partiellement répliqué.

**Figure 01:** Cycle cellulaire chez *E. coli*

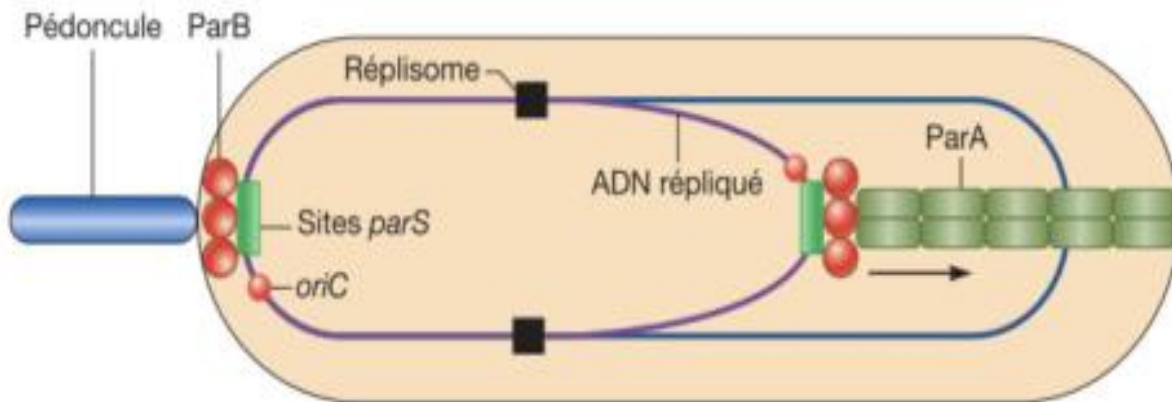
Si le processus de synthèse et du mouvement de l'ADN semble simple, on ne comprend pas encore entièrement le mécanisme grâce auquel les chromosomes sont répartis dans chaque cellule fille. Les résultats suggèrent que le mécanisme varie selon l'espèce bactérienne. Les études de *C. crescentus* ont permis de comprendre plus complètement le processus de partition. Cette bactérie a un cycle biologique intéressant au cours duquel une cellule pédonculée sessile se divise pour donner une cellule d'essaimage flagellée légèrement plus petite. Le flagelle se forme au pôle opposé au pédoncule (Fig. 02).



**Figure 02:** Cycle biologique de *Caulobacter*.

Les protéines ParA et ParB agissent ensemble pour initier la partition. ParA est capable de polymériser pour former des filaments et ParB est une protéine fixant l'ADN qui se positionne sur un site du chromosome appelé *parS*. Ce site est localisé à proximité de l'origine de réplication et ParB se fixe à chaque copie de site *parS* sur les deux chromosomes en formation lors de la réplication (Fig. 03). Un des complexes ParB/*parS* reste au pôle du pédoncule de la cellule en division. On pense que l'interaction entre un filament ParA et l'autre complexe ParB/*parS* entraîne la dépolymérisation du filament ParA et tire le nouveau chromosome vers le pôle opposé de la cellule. Lorsque la région origine de chaque nouveau chromosome a été positionnée à son pôle, le chromosome continue sa ségrégation en même temps que la réplication se poursuit. On pense que les protéines associées au nucléoïde continuent de tirer les deux jeunes chromosomes de part et d'autre pendant qu'elles les condensent.

On n'a malheureusement pas de preuve d'un rôle de ParA et ParB dans la ségrégation des chromosomes chez nombre des organismes encodant ces protéines. Quelques études de bactéries montrent en effet que des mutations dans les gènes encodant ParA ou ParB ne perturbent pas significativement la répartition des chromosomes. Des études complémentaires sont nécessaires pour discuter d'autres méthodes de répartition des chromosomes chez les bactéries et les archées.



**Figure 03:** Système de partition ParAB/*parS* de *Caulobacter crescentus*.

(ParB se fixe sur chaque site *parS* des deux nouveaux chromosomes. ParA est une protéine cytosquelettique qui tire un des nouveaux chromosomes vers le pôle opposé à celui du pédoncule. D'autres protéines sont impliquées dans la localisation de ParA et ParB à leur pôle respectif. Ce n'est pas montré ici par simplification).

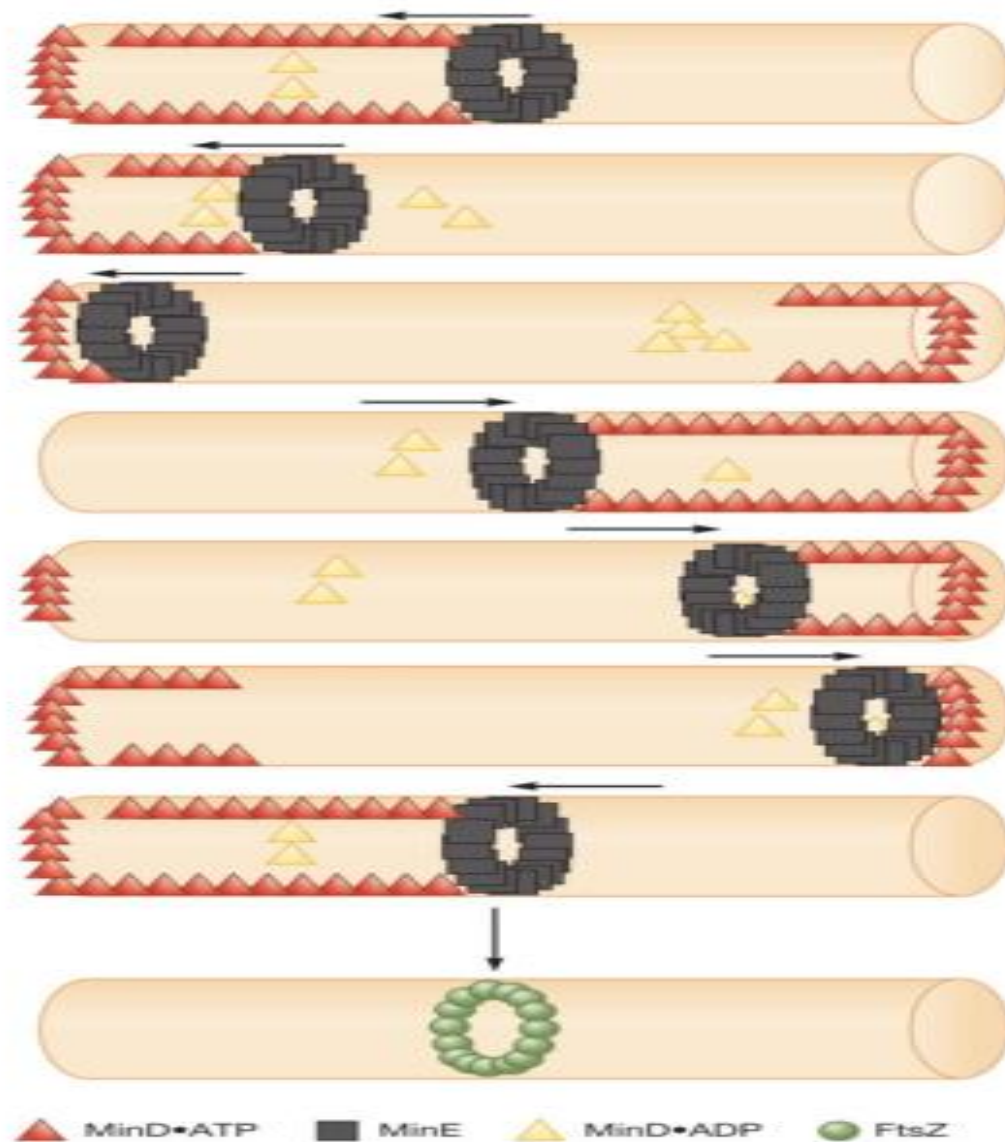
### 3. Cytocinèse

La **septation** est le processus de formation d'une paroi transversale entre deux cellules filles. La **cytocinèse**, un terme traditionnellement utilisé pour décrire la formation de deux cellules filles eucaryotes, est utilisé maintenant pour décrire le même processus dans toutes les cellules. La septation chez les bactéries est divisé en plusieurs étapes : (1) la sélection du site de formation du septum ; (2) l'assemblage de l'anneau Z est constitué de la protéine FtsZ ; (3) l'assemblage de la machinerie de synthèse de la paroi (c-à-d. pour la synthèse du peptidoglycane et d'autres constituants de la paroi) et (4) la constriction de l'anneau Z et la formation du septum. Malgré l'emploi répandu de FtsZ dans la cytocinèse, il y a des bactéries qui en sont dépourvues. Il y a un intérêt considérable à savoir comment ces organismes réalisent la cytocinèse.

L'assemblage de l'anneau Z est une étape essentielle de la septation parce qu'elle doit avoir eu lieu pour permettre le déroulement des étapes suivantes. La protéine FtsZ est un homologue de la tubuline et comme cette dernière, elle polymérise en formant des filaments qui paraissent créer la trame constituant l'anneau Z. De nombreuses études montrent que cet anneau est très dynamique, car on observe un échange constant de portion de la trame avec de courts polymères de FtsZ fraîchement formés dans le cytosol.

Une septation correcte requiert que l'anneau Z se forme au bon endroit et au bon moment. Dans *E.coli*, le système MinCDE, composé des trois protéines MinC, MinD et MinE, limite la

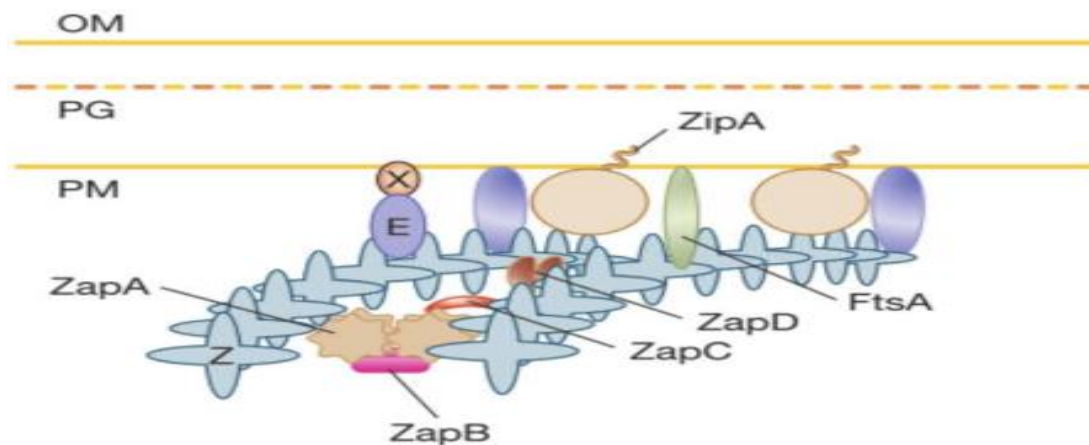
constitution d'un anneau Z au milieu de la cellule. Ces protéines oscillent d'un bout à l'autre de la cellule (Fig. 04). Cette oscillation augmente fortement la concentration de MinC aux pôles et y bloque la formation de l'anneau Z. Cet anneau Z ne peut donc que se former au milieu de la cellule dépourvu de MinADE.



**Figure 04:** Protéines MinCDE servent à établir le site de formation du septum. (MinC (non représentée ici) bloque la formation du septum. Elle oscille avec MinD. Les oscillations de MinD sont contrôlées par MinE qui suit également les mouvements de MinD. Le schéma montre que MinD-ATP interagit avec la membrane cytoplasmique et forme des filaments. La fixation de MinE sur MinD-ATP provoque une hydrolyse de l'ATP en donnant MinD-ADP. MinD-ADP est libéré du filament dans le cytosol. Là, il est reconverti en MinD-ATP qui forme des filaments à l'extrémité opposée de la cellule. MinC et MinE suivent et le processus recommence. Suite à ces oscillations les concentrations en MinC sont plus élevées aux pôles, la formation du septum ne peut se produire qu'au centre de la cellule.

Un mécanisme, appelé **occlusion du nucléoïde**, fait en sorte que l'anneau Z ne se forme qu'après la ségrégation presque complète des nouveaux chromosomes. C'est important parce que le chromosome pourrait être guillotiné par le nouveau septum. On pense actuellement que la protéine SlmA est essentielle pour ce processus. SlmA se fixe sur des sites proches de l'origine de réplication. Il faut se souvenir qu'au début de la réplication du chromosome l'origine est localisée au milieu de la cellule. Pendant que les molécules filles se déplacent vers les pôles, SlmA se déplace avec elles. Des études *in vitro* ont montré que SlmA inhibe la polymérisation de FtsZ. Donc, lorsque SlmA est au milieu de la cellule tôt dans la réplication, elle empêche la formation de l'anneau Z. Celui-ci peut se former dès qu'une partie suffisante des nouveaux chromosomes et des molécules SlmA a quitté le milieu de la cellule.

Une fois l'anneau Z formé, le reste de la machinerie de division, parfois appelée **divisome** (Fig. 05). Une ou plusieurs protéines d'ancrage fixent d'abord l'anneau Z à la membrane cytoplasmique. La machinerie de synthèse de la paroi se constitue ensuite. Si de nombreux composants du divisome ont été identifiés, la fonction de nombre d'entre eux est encore inconnue (Tab. 01). Les dernières étapes de la division sont la constriction de l'anneau Z, accompagnée de l'invagination de la membrane cytoplasmique et de la synthèse de la paroi du septum.



**Figure 05:** Divisome d'*E. coli*.

(L'appareil de division cellulaire est composé de nombreuses protéines. La première étape de la formation du divisome est la polymérisation de FtsZ pour former l'anneau Z. Les protéines FtsA et ZipA ancrent l'anneau Z à la membrane cytoplasmique (MC) et d'autres protéines s'assemblent sur l'anneau Z. FtsA et ZipA stabilisent l'anneau Z avec l'aide de ZapA, ZapB, ZapC et ZapD. FtsE et FtsX facilitent le recrutement et l'activation d'enzymes, des amidases, sur le divisome. Les amidases agissent en clivant la nouvelle paroi synthétisée de façon à permettre la séparation des cellules filles. PG : peptidoglycane ; ME : membrane externe).



Le cycle cellulaire décrit ci-dessus est celui observé dans les cellules d'*E.coli* en croissance lente. Dans ce cas, le cycle cellulaire complet dure environ 60 minutes. Mais *E.coli* peut se reproduire beaucoup plus rapidement, en 20 minutes environ, malgré le fait que la réplication de l'ADN exige toujours au moins 40 minutes. *E.coli* y parvient en débutant une seconde réplication de son ADN (et parfois même une troisième ou une quatrième) avant la fin de la première. Les cellules filles reçoivent donc deux fourches de réplication ou plus. La réplication est continue parce que les cellules sont toujours occupées à copier leur ADN).

**Tableau 01:** Certaines protéines de division et leurs fonctions

Protéines du divisome	Fonction
FtsZ	Formation de l'anneau Z
FtsA, ZipA	Ancrage de l'anneau Z à la membrane cytoplasmique
FtsK	Ségrégation des chromosomes et séparation des dimères du chromosome
FtsQLB	Pourrait offrir un échafaudage pour l'assemblage des protéines impliquées dans la synthèse du peptidoglycane
FtsI <sup>1</sup> , FtsW	Synthèse du peptidoglycane
FtsN	Proposé comme déclencheur de l'initiation de la constriction

FtsI<sup>1</sup> : est également connue comme la protéine de liaison de la pénicilline 3 (PLP3).

#### **4. Croissance cellulaire et la détermination de la morphologie cellulaire**

Comme on l'a vu, les cellules bactériennes et archéennes sont des morphologies définies, propre à l'espèce. Ces formes ne sont ni accidentelles, ni aléatoires, car elles se perpétuent fidèlement de génération en génération. En outre, certains microorganismes changent de forme dans certaines circonstances. Par exemple, *Sinorhizobium meliloti* passe de la forme bacillaire à une forme en Y lorsqu'elle vit en symbiose avec les plantes. De même, *Helicobacter pylori*, l'agent responsable d'ulcères gastriques et de cancers de l'estomac, modifie sa forme hélicoïdale caractéristique en une forme sphérique lors des infections de l'estomac et de culture prolongées.

Pour traiter de la forme de la paroi, il faut considérer également ses fonctions (la protection/solidité). Le constituant de la paroi qui est responsable de la protection contre la lyse

cellulaire est le peptidoglycane. La compréhension de la synthèse du peptidoglycane est donc essentielle pour comprendre la détermination de la forme de la cellule.

La synthèse du peptidoglycane exige la participation de nombreuses protéines dont un groupe d'enzymes, les protéines liant la pénicilline (PLP). Elles portent ce nom parce qu'elles ont d'abord été connues pour leur capacité à fixer la pénicilline. Bien que cette propriété soit importante, elles ont pour fonction de lier entre elles les chaînes de peptidoglycane et de catalyser l'hydrolyse de chaînes existantes pour permettre l'insertion de nouvelles unités pendant la croissance cellulaire. On désigne aussi les PLP qui hydrolysent les liaisons du peptidoglycane comme des **autolysines** ; d'autres autolysines, différentes des PLP, permettent également de sculpter le sac de peptidoglycane pendant la croissance et la division. La figure 06 montre certains des composants de la machinerie de synthèse du peptidoglycane et esquisse un schéma général de la synthèse du peptidoglycane. La synthèse de l'unité NAM-NAG-pentapeptide est complète lorsqu'elle est attachée à un transporteur lipidique (le bactoprénol) localisé dans la membrane cytoplasmique. Le transporteur-NAM-NAG-pentapeptide est basculé à travers la membrane par la protéine FtsW du divisome. Le NAM-NAG-pentapeptide libéré dans l'espace périplasmique est inséré dans une chaîne de peptidoglycane. La localisation cellulaire de l'activité autolytique et de l'exportation du peptidoglycane n'est pas aléatoire et joue un rôle important dans la détermination de la forme de la cellule.

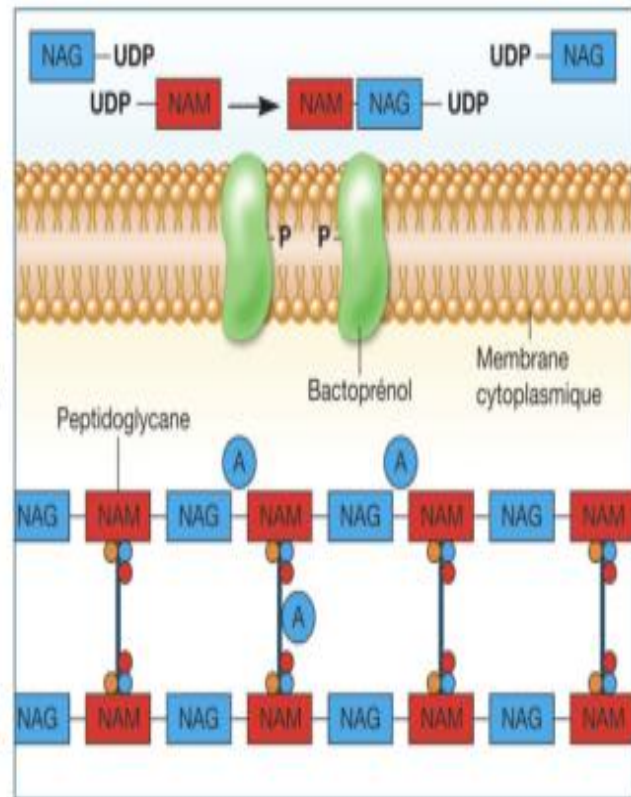
Cette description commencera par la forme la plus simple, le coque. Bien qu'on ait déclaré que c'était la forme par « défaut », il s'avère que la croissance d'une cellule sphérique est plus compliquée qu'on ne le pensait. Les études de coques modèles (ex. *Enterococcus faecalis* et *Staphylococcus aureus*) montre que le nouveau peptidoglycane ne se forme qu'au septum central (Fig. 7a). Lorsque les cellules filles se séparent, chacune possède un nouvel hémisphère et un vieux. Comme chez la plupart des bactéries, le placement correct du septum dépend de la localisation de FtsZ. Chez les cellules mutées dépourvues de cet homologue de la tubuline, la synthèse du peptidoglycane se déroule autour de la cellule de manière aléatoire en produisant des cellules boursoufflées qui se lysent. On pense donc que le positionnement de FtsZ détermine le site de la croissance de la paroi, peut-être en recrutant les PLP et les autres enzymes nécessaires à la synthèse du peptidoglycane au divisome.



1. La synthèse du peptidoglycane débute dans le cytoplasme par l'attachement de l'uridine diphosphate (UDP) à la N-acétylglucosamine (NAG). Certaines des molécules d'UDP-NAG sont converties en UDP-NAM. L'addition des acides aminés au NAM n'est pas montrée ici par simplification.

2. Le NAM est transféré de l'UDP sur le bactoprénol, un transporteur enfoui dans la membrane cytoplasmique. Le NAG est ensuite attaché au bactoprénol-NAM en générant le bactoprénol-NAM-NAG, appelé aussi lipide II. La protéine FtsW du divisome (non représentée ici) fait basculer cette unité à travers la membrane permettant ainsi aux unités NAM-NAG d'être disponibles pour une insertion dans le peptidoglycane.

2. Les autolysines associées au divisome (cercles cyan marqués d'un « A ») coupent les liaisons du peptidoglycane existant entre NAG et NAM ainsi que celles des ponts peptidiques. Cela permet l'insertion de nouvelles sous-unités de peptidoglycane.

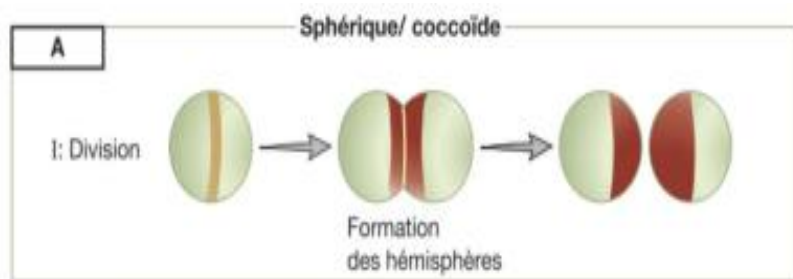


**Figure 06:** Composant de la machinerie de la synthèse du peptidoglycane

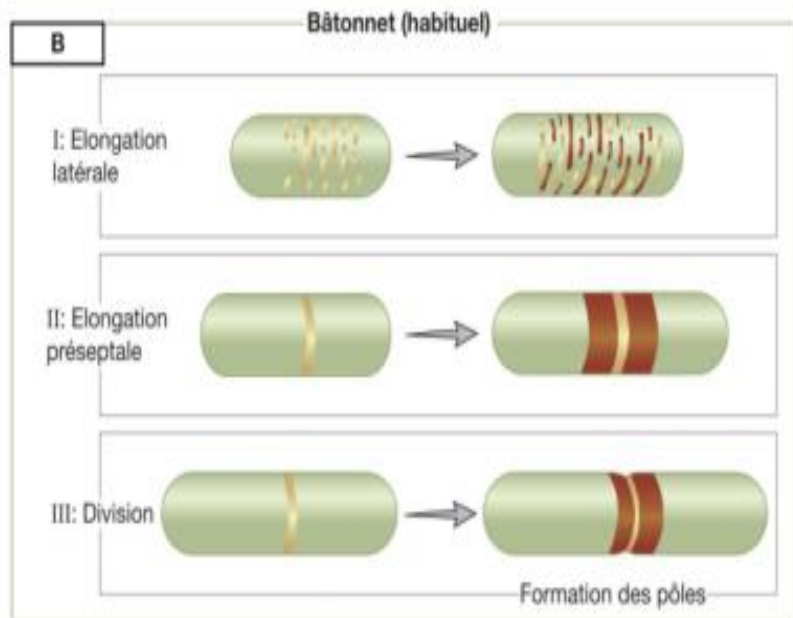
Le peptidoglycane des cellules en forme de bâtonnet est synthétisé par deux machines moléculaires qui partagent de nombreuses protéines, mais diffèrent par leur placement et de moment de leur fonctionnement (Fig. 7b). La première est responsable de l'élongation de la cellule qui se produit avant la formation du septum. On l'appelle parfois l'**élongasome**. La seconde est la divisome qui synthétise le peptidoglycane pendant la cytokinèse.

Pendant l'élongation, les protéines MreB, des homologues de la famille de l'actine, jouent un rôle essentiel. En se polymérisant, les protéines MreB s'organisent en amas de filaments disposés le long de la face interne de la membrane cytoplasmique. Bien qu'on ne connaisse pas bien la manière dont MreB control l'élongation, on a obtenu de nombreuses informations par l'étude des trois protéines MreB (MreB, Mbl et MreBH) de *Bacillus subtilis*. Pendant l'élongation, la croissance de la paroi se fait dans de nombreuses bandes autour de la circonférence de la cellule. Les bandes sont présentes sur la longueur de la cellule, mais pas aux pôles. On pense que MreB agirait plus comme un échafaudage dans le cytoplasme sur lequel les composants de la machinerie de synthèse de la paroi s'assemblent.

**AI.** Les cellules sphériques ne construisent un nouveau peptidoglycane qu'au milieu de la cellule là où le septum se formera pendant la division. Il se forme ainsi des cellules filles qui ont un nouvel hémisphère et un ancien.



**BI.** Pendant la croissance, avant la division, une nouvelle paroi est fabriquée sur la partie latérale de la cellule, mais pas aux pôles. On pense que ces sites sont déterminés par la position des homologues de MreB.



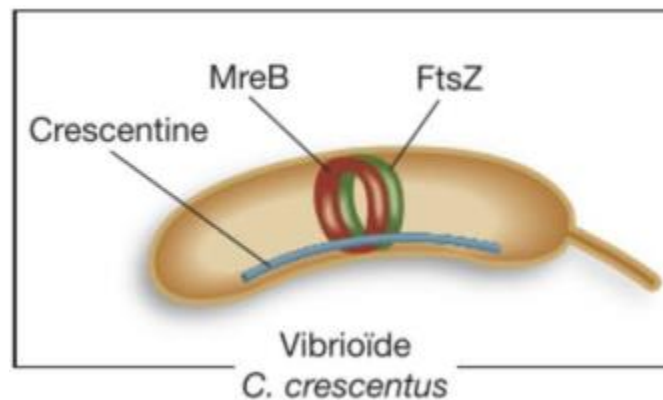
**BII.** Au début de la division, la polymérisation de FtsZ forme un anneau Z et la construction de la nouvelle paroi est confinée au milieu de la cellule.

**BIII.** Les cellules filles des bacilles possèdent un nouveau pôle et un ancien.

**Figure 07:** Biosynthèse de la paroi et détermination de la morphologie cellulaire chez les cellules sphériques et bacillaires.

Lorsque le moment du commencement de la cytokinèse approche, l'anneau FtsZ se forme au milieu de la cellule, en précisant la synthèse du peptidoglycane dans cette région. On a montré que dans certaines cellules, les protéines MreB et d'autres protéines de l'élongation se redéployaient depuis les parois latérales vers le milieu de la cellule de manière à pouvoir participer à la synthèse de la paroi pendant la cytokinèse. En conséquence, à ce moment, la croissance de la paroi passe de la paroi latérale vers le septum. Si on ne comprend pas bien les mécanismes de fonctionnement des protéines MreB, deux observations démontrent qu'elles ont une importance dans la détermination de la morphologie. Premièrement, les cellules bacillaires prennent une forme sphérique lorsque MreB a été réduite. En outre, alors que presque toutes les bactéries et archées cylindriques produisent au moins un homologue de MreB, les cellules coccoïdes ne possèdent pas de protéines de cette famille.

La dernière forme considérée est celle des cellules en forme de virgule qui a été étudiée chez la bactérie aquatique *Caulobacter crescentus*. En plus de MreB (homologue de l'actine) et de FtsZ (du type de la tubuline), ces cellules (et d'autres cellules de cette forme) produisent la **crescentine**, une protéine cytosquelettique homologue des filaments intermédiaires eucaryotes. Cette protéine se positionne sur un côté de la cellule où elle ralentit l'insertion de nouvelles unités de peptidoglycane dans la paroi (Fig. 08). Cette croissance asymétrique de la paroi induit l'incurvation caractéristique de ces cellules. Il est intéressant de noter qu'on a montré récemment qu'une enzyme métabolique, la CTP synthase, régule la polymérisation de la crescentine et de ce fait la forme de la cellule. Cette enzyme intervient normalement dans la synthèse du nucléotides CTP. On ne comprend pas encore pourquoi elle a cette fonction régulatrice de la crescentine.



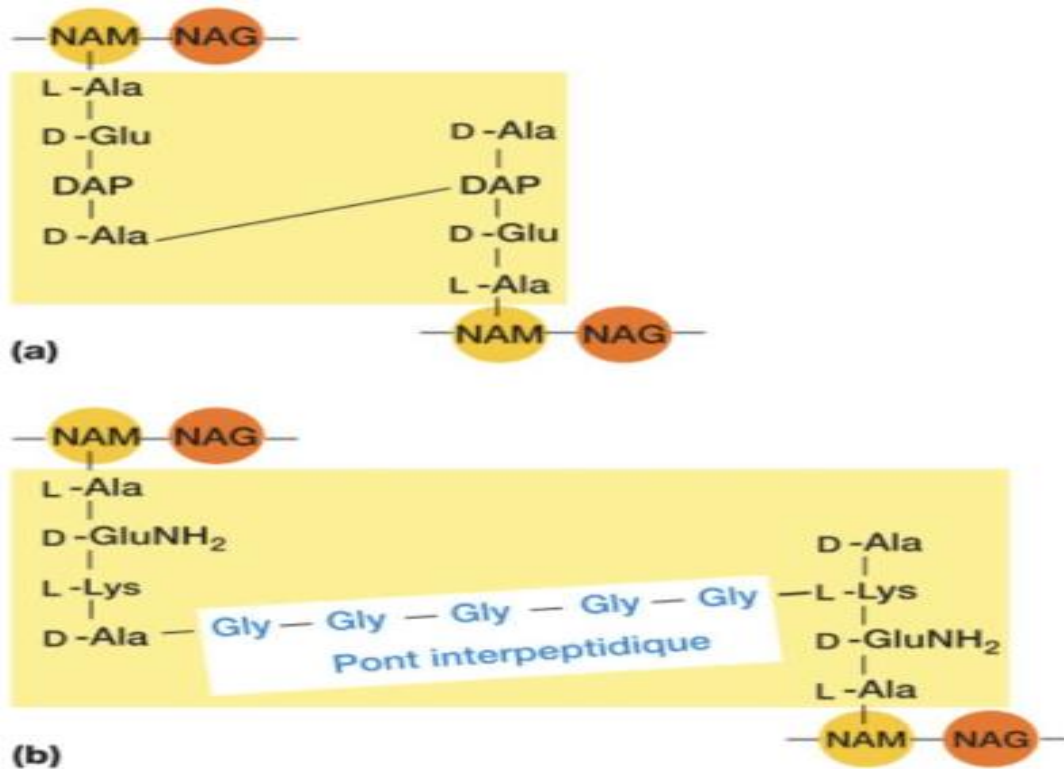
**Figure 08:** Forme vibriode de *Caulobacter crescentus* est déterminée par la crescentine. (La crescentine, un homologue du filament intermédiaire, se polymérise le long de la courbure interne de la cellule, les cellules dépourvues de crescentine ont une forme en bâtonnet. Remarquez que *C. crescentus* produit les trois types d'homologues des protéines cytosquelette).

**NB.** Des molécules capables de bloquer le fonctionnement de FtsZ inhibent la croissance de *S. aureus* et pourraient des traitements efficaces des maladies staphylococciques.

## 5. Synthèse du peptidoglycane

Les nucléosides phosphate-oses participent à la synthèse du peptidoglycane. Rappelons que le peptidoglycane est une grande molécule complexe, constituée de longues chaînes polysaccharidiques, faites d'une alternance de résidus d'acide N-acétylmuramique (NAM) et de N-acétylglucosamine (NAM). Les résidus NAM portent des chaînes constituées de cinq acides aminés (pentapeptides). Au cours de la synthèse du peptidoglycane, des chaînes adjacentes de polysaccharides sont réticulées par les liaisons qui se forment entre les peptides. Chez les bactéries

Gram-négatives et de nombreuses Gram-positives, les pentapeptides sont liés directement. Chez quelques Gram-positives, les peptides sont interconnectés par des ponts constitués d'un ou deux acides aminés (Fig. 09).



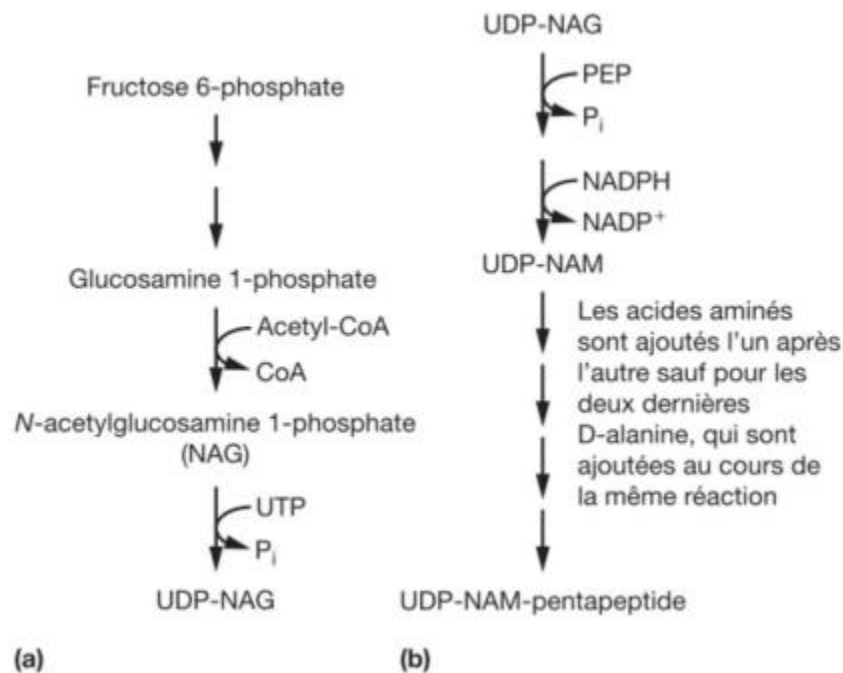
**Figure 3.19** Les pontages du peptidoglycane peuvent être directs ou indirects *via* un pont interpeptidique. (a) Le peptidoglycane d'*E. coli* avec un pontage direct, typique de la plupart des bactéries Gram-négatives. (b) Le peptidoglycane de *Staphylococcus aureus* (une bactérie Gram-positif) a un pont interpeptidique. NAM est l'acide N-acétylmuramique. NAG est la N-acétylglucosamine. Gly est la glycine. D-GluNH<sub>2</sub> est l'acide glutamique amidé sur le carbone  $\alpha$  (le carbone voisin du groupe carboxyle).

**Figure 09:** Pontage du peptidoglycane

Il n'est pas étonnant qu'une structure aussi intriquée nécessite un processus de biosynthèse tout aussi complexe, en particulier parce que certaines ont lieu dans le cytoplasme, d'autres dans la membrane et d'autres dans l'espace périplasmique. La synthèse du peptidoglycane implique deux transporteurs. Le premier, l'**uridine diphosphate** (UDP) intervient dans les réactions cytoplasmiques. Le second, le **bactoprénol phosphate**, intervient dans les réactions qui ont lieu

d'abord dans la membrane cytoplasmique, puis ensuite sur la face périplasmique de la membrane plasmique.

Dans la première étape de la synthèse, il se forme des dérivés UDP de l'acide N-acétylmuramique (NAM) et de la N-glucosamine (NGA) (Fig. 10).

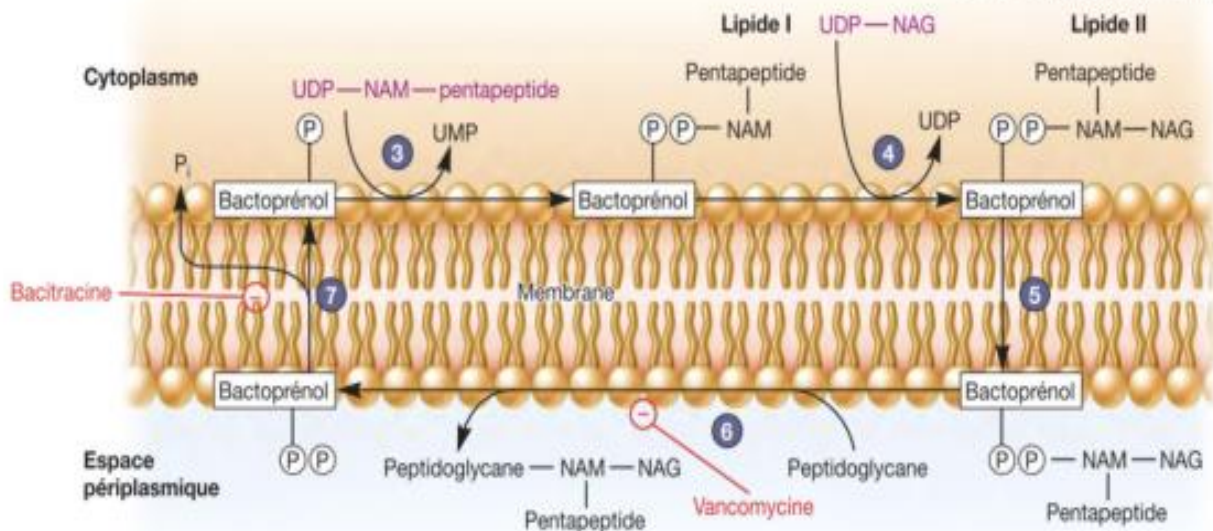


**Figure 10:** synthèse de l'UDP-NAG et de l'UDP-NAM-pentapeptide. (ce sont les premières étapes de la synthèse du peptidoglycane)

Les acides aminés sont alors ajoutés séquentiellement à l'UDP-NAM pour former la séquence pentapeptidique. Le NAM-pentapeptide est ensuite transféré au second transporteur, le bactoprénol phosphate (aussi appelé undécaprényl phosphate) localisé à la face interne de la membrane cytoplasmique (Fig. 11). L'intermédiaire ainsi formé est appelé le lipide I. le bactoprénol est lié au NAM par deux phosphates pyrophosphate (Fig. 12). Par la suite, l'UDP transfère la NAG au lipide I, qui devient le lipide II. A ce stade, l'unité répétitive du peptidoglycane est créée. Si le peptidoglycane requiert un pont inter-peptidique, celui-ci est ajouté pendant l'unité répétitive se trouve sur la face cytoplasmique de la membrane. Une fois que le lipide II est formé, l'unité répétitive se retourne à travers la membrane plasmique de telle sorte qu'elle se trouve désormais du côté périplasmique de la membrane plasmique, toujours attaché au bactoprénol. Cela est catalysé par une enzyme que l'on désigne souvent sous le nom de « flippase ».



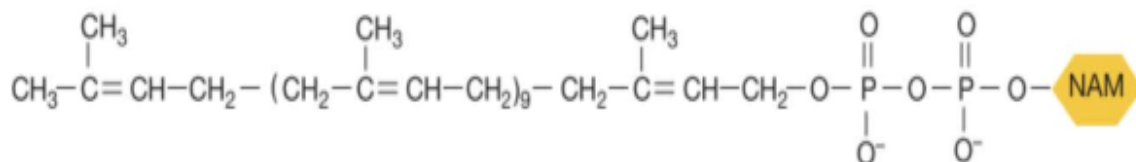
- 1 Synthèse de dérivés UDP du NAM et de la NAG (figure 11.8).
- 2 Addition séquentielle d'acides aminés à l'UDP-NAM pour former l'UDP-NAM-pentapeptide (figure 12.8b).
- 3 Le NAM-pentapeptide est transféré sur le bactoprénol phosphate (figure 12.10), générant le Lipide I. La jonction se fait par un lien pyrophosphate.
- 4 L'UDP transfère la NAG au bactoprénol-NAM-pentapeptide, générant le Lipide II. Si un pont pentaglycine est requis, il se construit au moyen de molécules d'un ARNt-glycine spécial, mais sans ribosome. La formation de ce pont s'effectue dans la partie cytoplasmique de la membrane.
- 5 Le lipide II est retourné à travers la membrane par l'enzyme flippase (non représentée). Le bactoprénol demeure inclus dans la membrane alors que l'unité répétitive s'étend maintenant dans l'espace périplasmique.



- 6 Le NAG-NAM-pentapeptide s'attache à l'extrémité en croissance d'une chaîne de peptidoglycane attachée à la membrane par une molécule de bactoprénol. La longueur de la chaîne se trouve augmentée d'une unité répétitive.
- 7 Le donneur bactoprénol retransverse la membrane. Pendant ce retour, il perd un phosphate, et devient le bactoprénol phosphate. Il est ainsi prêt à commencer un nouveau cycle.
- 8 Les ponts peptidiques entre les chaînes de peptidoglycane sont formés par transpeptidation (figure 12.11).

**Figure 11:** Synthèse du peptidoglycane.

(la figure montre NAM, NAG et aussi l'inhibition par la bacitracine et la vancomycine).

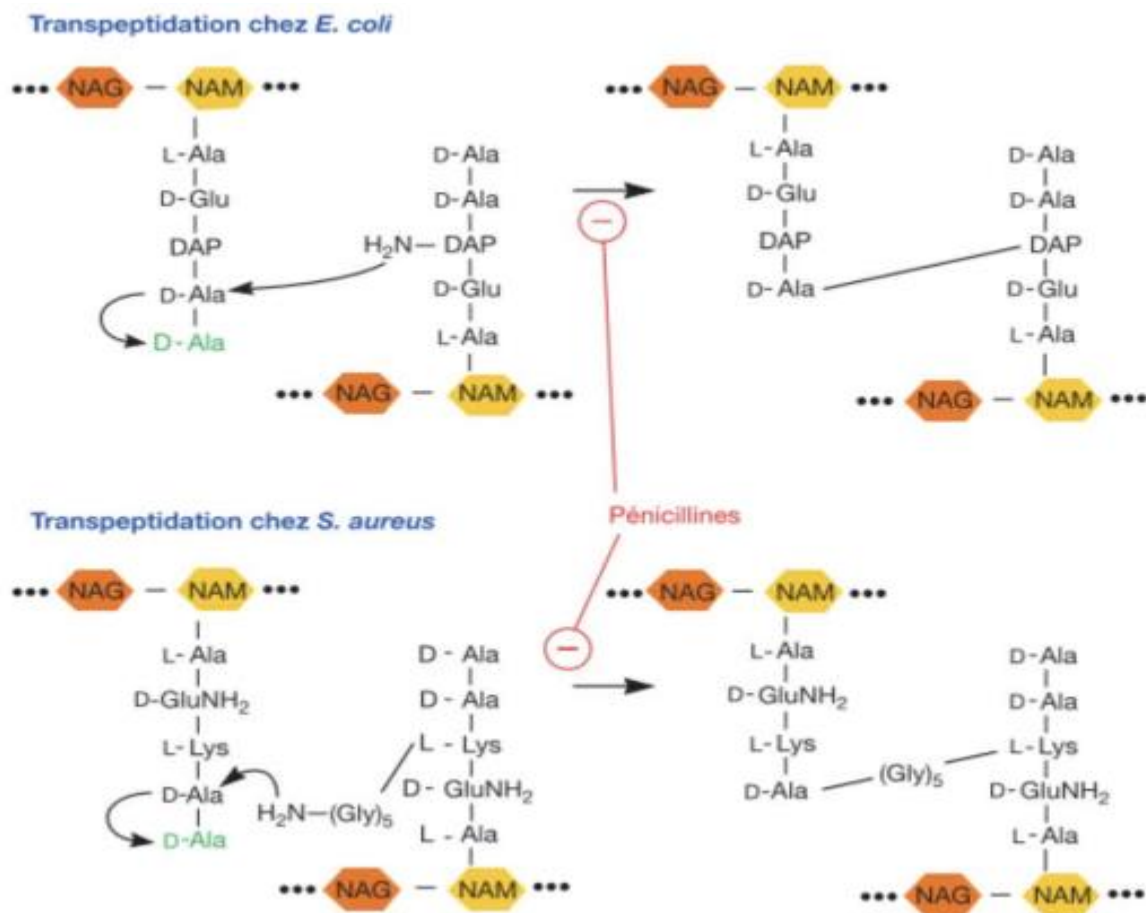


**Figure 12:** Bactoprénol-NAM.

(le bactoprenol dérive d'un alcool isoprénique à 55 carbones connecté à l'acide N-acétylmuramique (NAM) par un pyrophosphate).



L'identité de la flippase a fait l'objet de spéculations considérables, mais les preuves les plus récentes suggèrent qu'il s'agit d'une protéine appelée MurJ. Des enzymes appelées glycotransférases attachent ensuite l'unité répétitive à une chaîne en croissance de peptidoglycane, encore liée au bactoprénol. Les glycotransférases sont des protéines du type de celles qui lient la pénicilline (PBP) qui agissent au cours de la synthèse du peptidoglycane. La chaîne en croissance est libérée du bactoprénol au cours de l'étape finale de la synthèse : la transpeptidation (Fig. 13), qui établit les ponts peptidiques entre les chaînes de peptidoglycane. Les enzymes appelées transpeptidases catalysent cette réaction. Ce sont aussi des PBP. Lors de la transpeptidation, la D-alanine terminale est éliminée au moment où la réticulation s'établit.



**Figure 13:** Transpeptidation

Le résultat du processus que nous venons de décrire aboutit à un **sacculus** de peptidoglycane dont l'épaisseur se trouve augmentée d'une couche. Cependant, le peptidoglycane d'une bactérie présente habituellement une épaisseur constante. De plus, pour que des cellules en bâtonnets

s'allongent, et pour qu'une cellule bactérienne se divise, la structure du sacculus doit être façonnée et modifiée afin de permettre le maintien de la bonne épaisseur, de l'élongation, et de la séparation lors de la cytokinèse. Cela est réalisé par des enzymes hydrolytiques souvent appelées **autolysines**. Ces enzymes sont aussi des PBP et agissent d'une façon précise et bien régulée en maintenant la forme et l'intégrité de la paroi vis-à-vis de la forte pression osmotique. Certaines autolysines attaquent les chaînes polysaccharidiques, tandis que d'autres hydrolysent les ponts peptidiques. L'activité des autolysines est étroitement contrôlée car une activité non régulée conduirait à un affaiblissement du sacculus de peptidoglycane (on ne sait pas précisément comment cette activité est contrôlée !!!).

Etant donné l'importance du peptidoglycane dans la structure et la fonction de la paroi cellulaire bactérienne et de son absence dans les cellules animales, sa synthèse constitue une cible particulièrement efficace pour les agents antimicrobiens. L'inhibition de n'importe quelle étape de la synthèse affaiblit la paroi cellulaire et conduit à la lyse. Par exemple, la pénicilline inhibe la réaction de la transpeptidation (Fig. 13) et la bacitracine bloque la déphosphorylation du bactoprénol pyrophosphate (Fig. 11).