

## CHAPITRE VIII: MOBILITE et CHIMIOTACTISME

### 1. Introduction

Plusieurs structures externes à l'enveloppe cellulaire interviennent dans la mobilité. On connaît 5 types principaux de mouvement chez les bactéries : la nage due aux flagelles, l'essaimage assuré par des flagelles, le mouvement en tire-bouchon des spirochètes, le déplacement saccadé dû aux pili de type IV et le glissement.

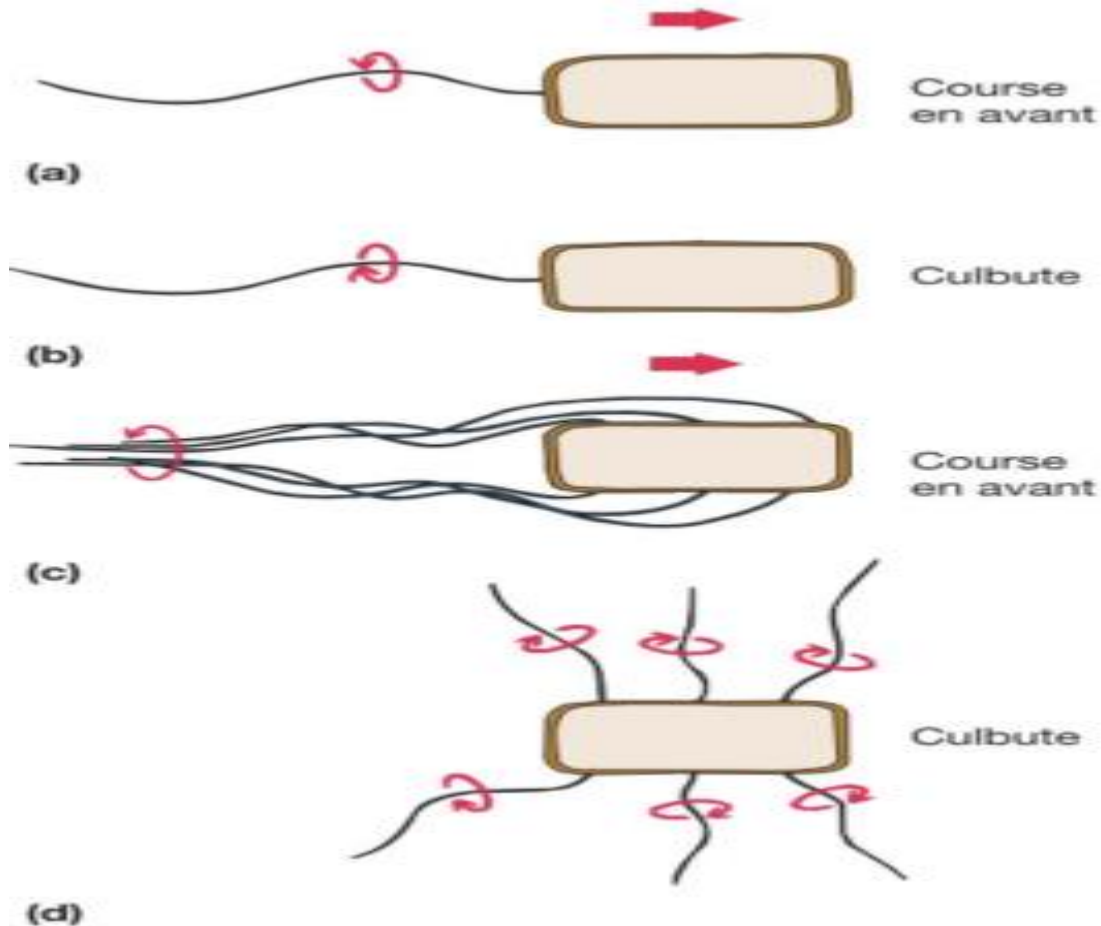
Les bactéries mobiles ne se déplacent pas au hasard. Elles le font plutôt pour se diriger vers des éléments nutritifs comme des sucres et des acides aminés et pour s'éloigner de nombreuses substances nocives et des déchets bactériens. Le mouvement vers des produits chimiques ou à l'écart d'agents répulsifs est connu comme le **chimiotactisme**. Les bactéries mobiles sont également capables de répondre aux signaux environnementaux tels que la température (thermotactisme), la lumière (phototactisme), l'oxygène (aérotactisme), la pression osmotique (osmotactisme) et la gravité.

### 2. Mouvement flagellaire

#### 2.1. Nage

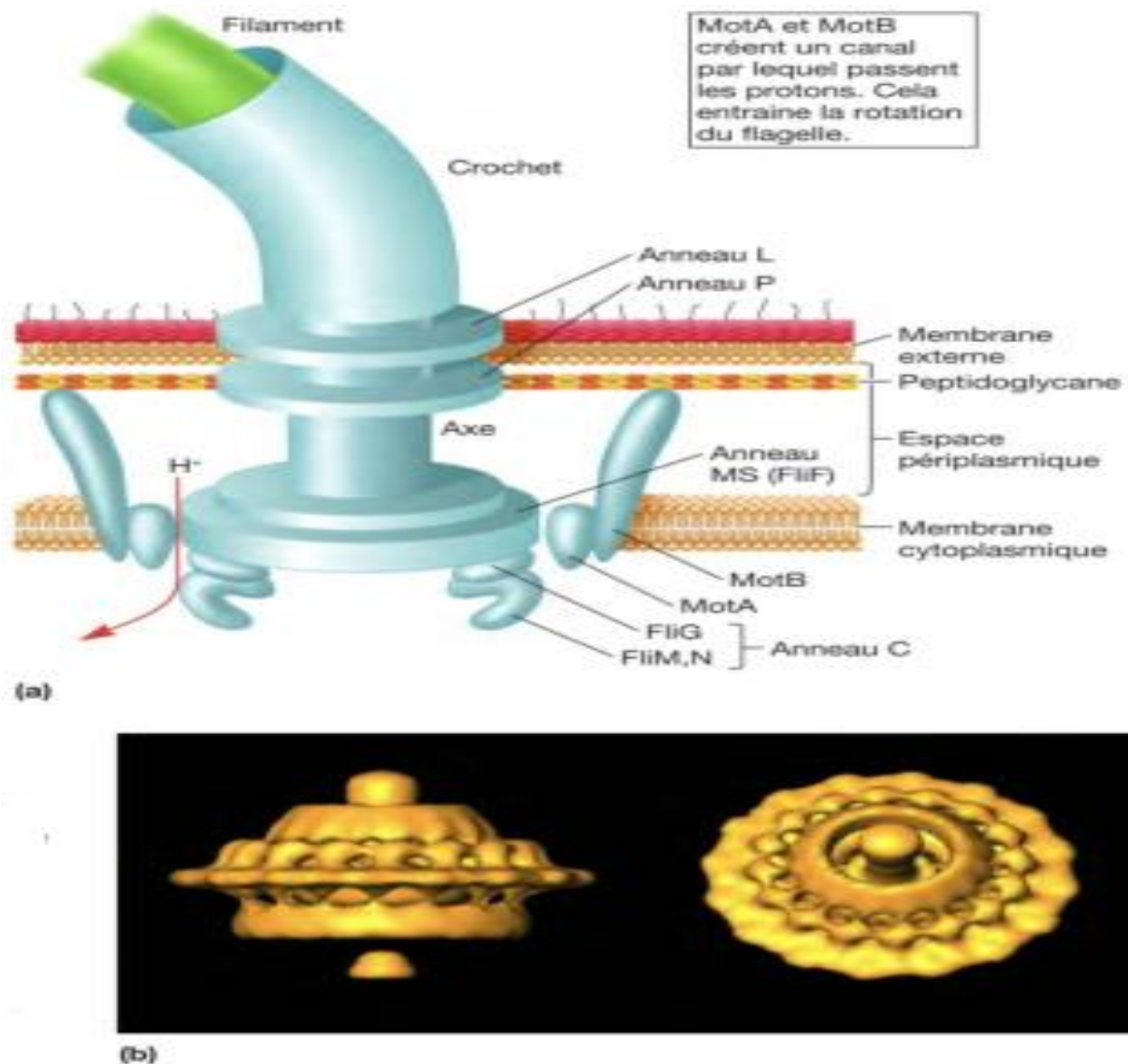
Le filament du flagelle bactérien se présente comme une forme hélicoïdale rigide et la cellule se déplace quand cette sorte d'hélice tourne de la même manière que les hélices de bateau. Le moteur flagellaire peut tourner très rapidement. Chez *E. coli*, le moteur tourne à 270 tours par seconde ; chez *Vibrio alginolyticus*, il tourne à environ 1100 tours par seconde. Pour de nombreuses bactéries dans un milieu aqueux, la rotation flagellaire produit deux types de mouvement : un mouvement de nage douce s'appelle la **course**, qui déplace réellement la cellule d'un point à un autre, et la **culbute**, qui sert à réorienter la cellule. Souvent, la description de la rotation du flagelle détermine si une course ou une culbute se produit. Par exemple, le flagelle monotriche polaire de nombreuses bactéries tourne dans le sens antihorlogique pour une course (Fig. 01). Quand la rotation s'inverse, la cellule culbute. Les bactéries flagellées péritriches tournent dans le sens antihorlogique. Se faisant, ils courbent leur crochet pour former un faisceau rotatoire qui propulse

la cellule vers l'avant. La rotation des flagelles dans le sens horlogique détruit ce faisceau et la cellule culbute sur elle-même.



**Figure 01:** Direction de la rotation flagellaire souvent la manière dont se déplace une bactérie. (Les parties (a) et (b) décrivent le mouvement de nombreuses bactéries monotriches polaires. Les parties (c) et (d) illustre les mouvements de nombreux organismes péritriches).

Le moteur, qui assure la rotation flagellaire, est placé à la base du flagelle. Le mouvement de rotation (le torque) généré par le moteur est transmis au crochet et au filament par le corps basal. Le moteur comprend deux composants : le **rotor** et le **stator**. On pense qu'il fonctionne à la manière du rotor d'un moteur électrique qui tourne au centre d'un anneau d'électro-aimants (le stator). Chez les bactéries Gram-négatives, le rotor est constitué de l'anneau MS et de l'anneau C (Fig. 02). La protéine FliG de l'anneau C est un composant particulièrement important du rotor parce qu'on pense qu'elle interagit avec le stator. Ce dernier est constitué des protéines MotA et MotB qui forment un canal à travers la membrane cytoplasmique. MotB sert aussi à ancrer MotA dans le peptidoglycane.



**Figure 02:** Mécanisme du mouvement flagellaire.

(a) Ce schéma d'un flagelle montre certains des éléments les plus importants et le flux de protons qui entraîne la rotation. Certaines des nombreuses protéines flagellaires sont indiquées. (b) Reconstruction tridimensionnelle d'une cryotomographie électronique du moteur flagellaire.

Comme tous les moteurs, celui des flagelles doit disposer d'une source d'énergie lui permettant de générer le torque et de provoquer la rotation du flagelle. L'énergie utilisée par la plupart des moteurs flagellaires est une différence de charge et de pH à travers la membrane cytoplasmique. C'est ce qu'on appelle **la force proton-motrice (FPM)**. Un processus métabolique important est le transfert des électrons d'un donneur à un accepteur d'électron terminal via une chaîne de transporteurs d'électrons, appelée chaîne de transfert d'électrons (CTE). Chez les bactéries, la plupart des composants de la CTE sont situés dans la membrane cytoplasmique.

Pendant le transfert des électrons le long de la CTP, il y a un transport de proton du cytoplasme vers l'extérieur de la cellule. Comme la quantité de proton (des ions positifs) augmente à l'extérieur de la cellule, le pH diminue. La FPM est un type de potentiel d'énergie qui peut être utilisé pour effectuer un travail : un travail mécanique, comme dans le cas de la rotation flagellaire ; un travail de transport, le mouvement de matière dans ou hors de la cellule; ou un travail chimique comme la synthèse d'ATP, la monnaie énergétique de la cellule.

Comment la FPM peut-elle être utilisée pour alimenter le moteur flagellaire ? Les canaux formés par les protéines MotA et MotB permettent aux protons de traverser la membrane cytoplasmique de l'extérieur vers l'intérieur (Fig. 02). Les protons descendent donc le gradient de charge et de pH. Ce mouvement libère de l'énergie qui est utilisée pour faire tourner le flagelle. Essentiellement, l'entrée d'un proton dans le canal ressemble essentiellement à l'entrée d'une personne dans une porte à tambour. La « puissance » du proton génère le torque (la rotation) comme une personne qui pousse la porte à tambour. La vitesse de rotation du flagelle est en effet proportionnelle à l'importance de la FPM.

## **2.2. Essaimage**

On a constaté qu'un nombre croissant d'espèces bactériennes montrent un type de mobilité appelé essaimage. Elle se déroule sur des surfaces humides et présente une forme de comportement en groupe de cellules se déplaçant à l'unisson sur la surface. Beaucoup produisent et sécrètent aussi des molécules qui les aident à se déplacer sur le substrat. Cultivées au laboratoire sur des milieux solides appropriés, ces bactéries essaimantes présentent des colonies de morphologie caractéristique (Fig. 03).

## **2.3. Mobilité des spirochètes**

Les flagelles des spirochètes travaillent différemment. Chez nombre de ces bactéries, les flagelles proviennent de chaque extrémité de la cellule et s'enroulent autour de celle-ci (Fig. 04). Les flagelles ne s'étendent pas à l'extérieur de la paroi cellulaire, mais restent plutôt dans l'espace périplasmique et sont couverts par la membrane externe. On dit que ce sont des **flagelles périplasmiques**. On pense qu'ils ont un mouvement rotatoire comme les flagelles des autres bactéries, ce qui entraînerait la rotation de la gaine externe en forme de tire-bouchon et le mouvement de la cellule dans le liquide environnant, même des liquides très visqueux. La rotation

flagellaire peut également fléchir ou courber la cellule et être responsable du mouvement de reptation observé lorsque les spirochètes sont au contact d'une surface solide.



**Figure 03:** Bactéries essaimantes produisent souvent des motifs distinctifs sur un milieu de culture solide.

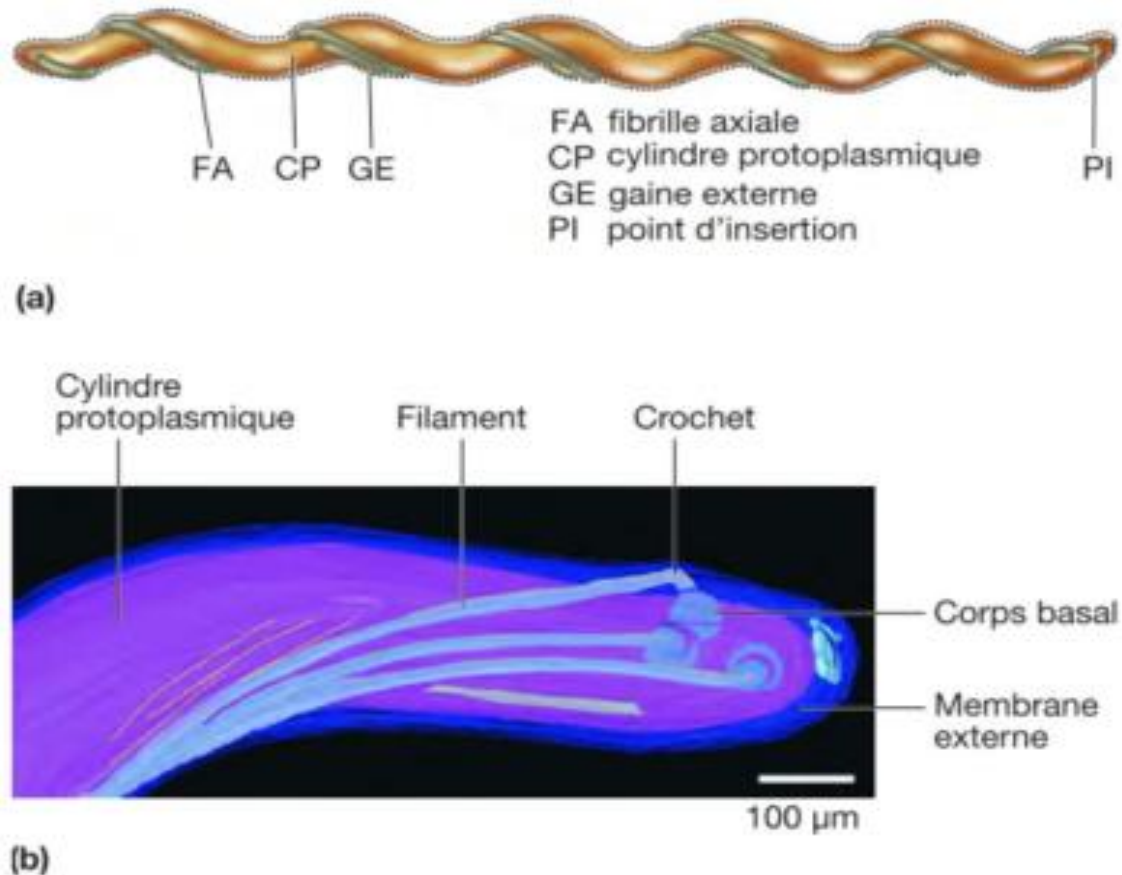
(Ces cellules bactériennes ont essaimé depuis le centre de la boîte et forment un motif branchu dénommé dendrite).

### 3. Mobilité par saccades et par glissement

Les cellules se déplacent par saccade ou par glissement lorsqu'elles sont sur une surface solide. A l'inverse de l'essaimage, ces deux types de mobilité ne reposent pas sur l'action de flagelles. Le mouvement de **glissement** varie fortement en termes de vitesse (de 2 à plus de 600  $\mu\text{m}/\text{min}$ ) et de type de mouvement. Bien que connu depuis plus de 100 ans, le mécanisme utilisé par de nombreuses bactéries demeure un mystère.

L'attention est portée ici sur *Myxococcus xanthus* qui présente les deux types de mobilité. Son déplacement saccadé, désigné comme la *mobilité sociale (S)*, se produit lorsque de grandes populations de cellule se déplacent ensemble de manière coordonnée. La **mobilité saccadée** (« **twitching** ») se caractérise par des mouvements courts, intermittents, saccadés sur une longueur allant jusqu'à plusieurs micromètres et se déroule sur des surfaces très humides. On pense que les pili de type IV s'étendent et se rétractent alternativement pour déplacer les bactéries. Le pilus étendu contacte la surface à une certaine distance de la cellule. En se rétractant, il tire la cellule vers l'avant. L'hydrolyse de l'ATP fournirait l'énergie pour le processus d'extension/rétraction.

Bien que l'exemple choisi ici soit *Myxococcus xanthus*, beaucoup d'autres bactéries emploient des pili de type IV pour se déplacer de cette manière.



**Figure 04:** Flagelle du spirochète.

(a) De nombreuses flagelles proviennent de chaque extrémité du spirochète. Ils s'entrelacent et s'enroulent autour de la cellule en se superposant au centre. (b) Vue par cryotomographie électronique de la surface de *Treponema denticola* montre trois flagelles provenant d'une extrémité de la cellule.

A l'inverse du mouvement saccadé, le glissement présenté par *Myxococcus xanthus* est doux. Ce mouvement est désigné comme la *mobilité aventureuse* (A). On l'observe lorsque les cellules se déplacent de manière indépendante. Chez *Myxococcus xanthus*, des protéines similaires aux MotA et MotB du moteur flagellaire agissent comme moteurs dans la membrane cytoplasmique (comme les moteurs flagellaires) et sont associées à d'autres protéines en formant des complexes relativement grands. D'autres protéines connectent les moteurs à la protéine MreB du cytosquelette. D'autres protéines encore connectent les moteurs au substrat sur lequel les cellules glissent. Les moteurs sont actionnés par la FPM. Reste à expliquer comment l'action des complexes moteurs se transforme en un mouvement de glissement.

#### 4. Chimiotactisme

Imaginez une bactérie mobile dans un océan. Selon sa position dans la colonne d'eau, la lumière, l'oxygène et le niveau des nutriments varieront. Ces facteurs changent également en fonction du temps en raison des activités de tous les organismes présents. Pour pouvoir se positionner dans le lieu le plus bénéfique dans la colonne d'eau, cette bactérie doit percevoir les changements dans l'environnement et se déplacer en conséquence. Le mouvement vers un élément attractif ou à l'écart d'un élément répulsif est appelé **tactisme**. Comme vu antérieurement, les bactéries montrent un tactisme pour répondre à divers stimuli, dont la lumière et l'oxygène. Mais le mouvement orienté vers des substances attractives ou à l'écart de substances répulsives (le **chimiotactisme**) est le tactisme le mieux étudié. On observe facilement un chimiotactisme dans des cultures en boîte de Petri. Placées au centre d'une gélose semi-solide contenant une substance attractive, les bactéries épuiseront localement le produit et nageront vers l'extérieur en suivant le gradient qu'elles ont créé. Elles formeront ainsi un anneau en expansion. En déposant un disque imprégné d'une substance répulsive sur une gélose semi-solide, les bactéries s'éloigneront du répulsif, en créant une zone claire autour du disque.

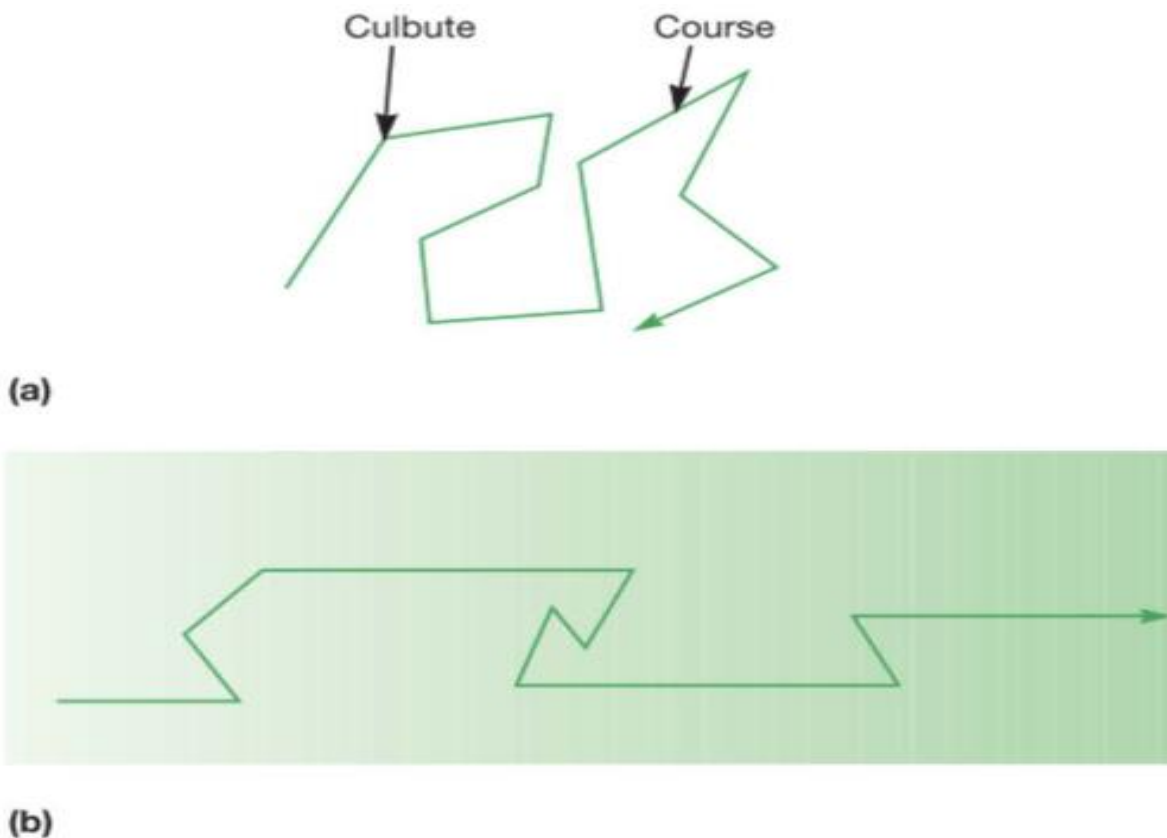
Les substances attractives et répulsives sont détectées grâce à des chimiorécepteurs, des protéines, qui fixent des substances chimiques et transmettent des signaux à d'autres composants du système senseur. Les systèmes chimiosenseurs sont très sensibles et permettent à la cellule de répondre à de très faibles concentrations de substances attractives (environ  $10^{-8}$  M pour certains glucides). Ces protéines réceptrices sont

En absence de gradient chimique, les bactéries se déplacent au hasard, passant d'une course à une culbute. Pendant une course, la bactérie se déplace en ligne droite ou légèrement courbe. Après quelques secondes, la bactérie s'arrête et culbute. La culbute réoriente la bactérie de façon aléatoire de sorte qu'en reprenant la course suivante, elle prend souvent une autre direction (Fig. 05a). Par contre, exposée à un gradient d'une substance attractive, *E.coli* culbute moins fréquemment (ou a des courses plus longues) lorsqu'elle se dirige vers les concentrations les plus élevées. Bien que des culbutes puissent encore écarter la bactérie de cette substance attractive, avec le temps la bactérie se rapproche de plus en plus des concentrations les plus élevées (Fig. 05b). La réponse inverse se produit dans un gradient de répulsif. La fréquence des culbutes diminue (la course s'allonge) quand la bactérie s'éloigne de ce dernier.

localisées dans la membrane cytoplasmique chez les bactéries Gram-négative typiques. Certains récepteurs participent également aux premières étapes du transport du sucre dans la cellule.

➤ **Chimiotactisme chez *E.coli***

Pour simplifier notre cours, nous ne nous intéresserons qu'au mouvement dirigé vers une substance attractive. Le système chimiotactique le mieux étudié est celui d'*E. coli*. Cette bactérie, comme beaucoup de bactéries péritriches à flagelles, pratique deux types de mouvements : un mouvement de nage souple qu'on appelle une **course**, interrompu par un second mouvement appelé **culbute** (en anglais *tumble*). Il y a course lorsque le flagelle tourne dans le sens inverse des aiguilles d'une montre (sens antihorlogique) et une culbute (sens horlogique) (Fig. 01 et 05). La cellule alterne ces deux types de mouvement, la culbute décidant de la direction de la course qui suit.



**Figure 05:** Culbute et course sont utilisées pour diriger le mouvement de nombreuses bactéries vers une substance attractive.

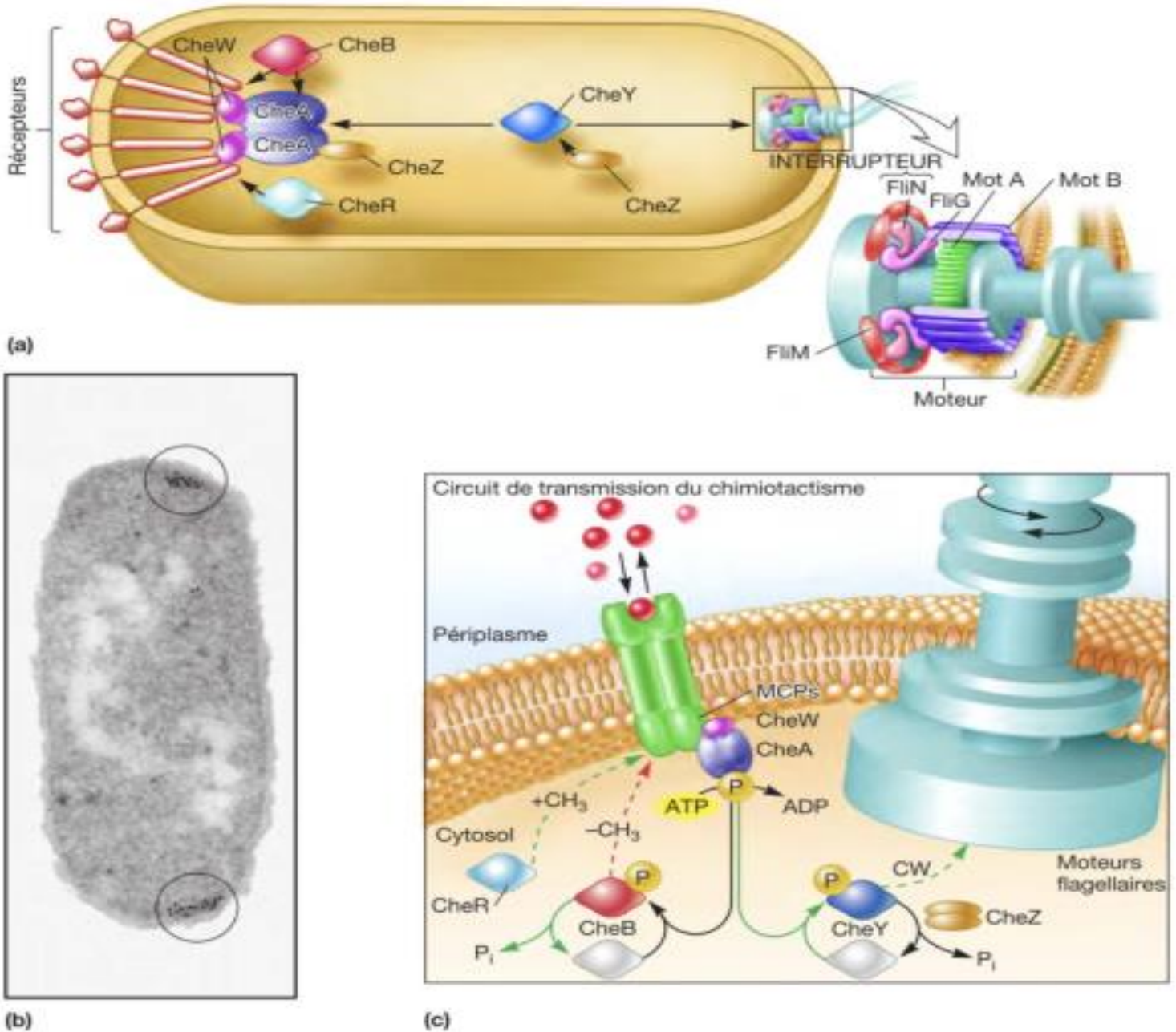
(a) Mouvement erratique d'une bactérie, en l'absence d'un gradient de concentration. La fréquence des culbutes est assez constante. (b) Mouvement dans un gradient d'une substance attractive. La fréquence des culbutes diminue quand la bactérie se déplace dans le sens croissant du gradient de sorte que les courses sont allongées en direction des concentrations plus élevées de l'élément attractif.



Quand *E. coli* est dans un environnement homogène (c'est-à-dire, lorsque la concentration de toutes les substances chimiques du milieu est la même dans tout l'habitat) la cellule se déplace à peu près au hasard, sans direction ou but apparent ; c'est ce qu'on appelle un **déplacement aléatoire**. Cependant, si le milieu présente un gradient chimique, la fréquence des culbutes diminue aussi longtemps que la cellule se dirige vers la substance attractive. En d'autres termes, le laps de temps passé à aller vers la substance attractive augmente et au bout du compte, la cellule s'en rapproche. Le processus n'est pourtant pas parfait, et les cellules doivent rajuster continuellement leur direction par un jeu d'essais et erreurs, assuré par les culbutes. Si on examine le chemin suivi par la cellule, on voit qu'il ressemble à un déplacement aléatoire, mais biaisé vers les substances attractives.

Pendant de nombreuses décennies, les scientifiques ont disséqué ce comportement complexe, pour comprendre comment *E. coli* détectait la présence d'une substance attractive, comment elle passait d'une course à une culbute et y revenait ; et comment elle savait qu'elle allait dans la bonne direction. Ces études révèlent que la réponse chimiotactique d'*E.coli* fait intervenir un système de transcription du signal à deux composants et la modification covalente des récepteurs de chimiotactisme.

Pour qu'il y ait chimiotactisme, *E.coli* doit détecter la présence d'une substance attractive, et moduler alors l'activité du système de phosphorelais qui dicte le sens de rotation du flagelle (c.-à-d., soit dans le sens de la course, soit de la culbute). *E.coli* décèle la présence des substances chimiques dans son environnement, lorsque celles-ci se fixent à des chimiorécepteurs (Fig. 06). On a identifié de nombreux chimiorécepteurs. Nous nous focaliserons sur une classe d'entre eux, les **protéines chimiotactiques acceptrices de méthyle (MCP)**, pour « Methyl-accepting Chemotaxis Protein ». Le système de transduction du signal qui contrôle la direction de rotation du flagelle comprend la kinase-senseur CheA, et le régulateur-de-réponse CheY. Lorsqu'elle est activée, CheA s'autophosphoryle en utilisant l'ATP (Fig. 06c). Le groupement phosphorylé est ensuite rapidement transféré à CheY. CheY phosphorylé diffuse à travers le cytoplasme jusqu'au moteur flagellaire. Quand il y a interaction avec le moteur, la direction de rotation bascule d'antihorlogique à horlogique, et il s'ensuit une culbute. Quand CheA est inactive, le flagelle tourne dans son mode par défaut (antihorlogique) et la cellule se déplace en une course régulière.



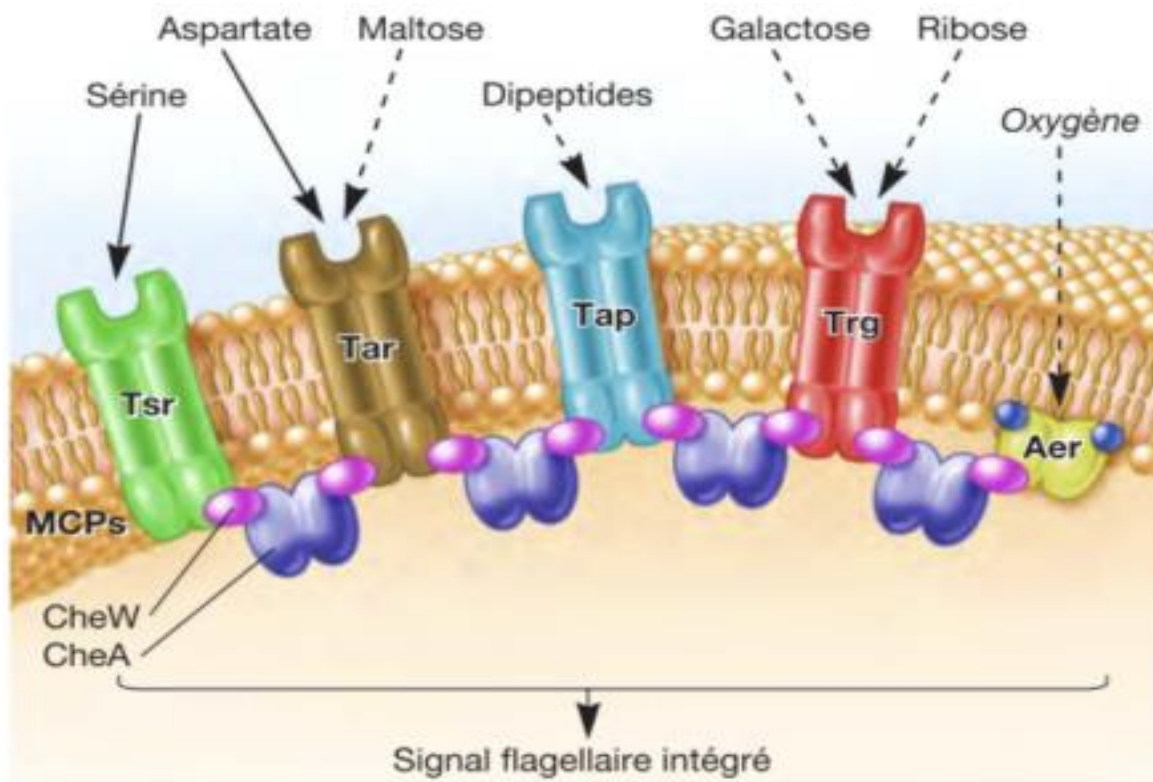
**Figure 06:** Protéines et voies de transmission de signaux, dans la réponse chimiotactique chez *E.coli*.

(a) les protéines chimiotactiques acceptrices de méthyle (MCP) forment des complexes (clusters) associés aux protéines CheA et CheW. CheA est une kinase senseur. Lorsqu'elle est activée, elle phosphoryle deux régulateurs de réponse, CheB, une méthylestérase, ou CheY. La forme CheY phosphorylée interagit avec la protéine FliM du moteur flagellaire et fait basculer la rotation du flagelle du sens antihorlogique au sens horlogique. Il en résulte la transition du mouvement de course (rotation antihorlogique) au mouvement de culbute (rotation horlogique). (b) Les complexes MCP, CheW, CheA forment de grands complexes récepteurs, à l'une ou l'autre extrémité de la cellule, comme le montre cette micrographie électronique d'*E.coli*. On a utilisé des anticorps marqués à l'or pour localiser ces complexes récepteurs, qui

apparaissent sous forme de points noirs (entourés par un cercle). (c) La voie de transmission de signaux du chimiotactisme chez *E. coli*. Les voies qui augmentent la probabilité d'une rotation antihorlogique sont indiquées en rouge. C'est cette rotation qui fonctionne par défaut. Elle est périodiquement interrompue par une rotation horlogique qui provoque un culbute. Les voies qui mènent à la rotation horlogique sont en vert. Les molécules en gris ne sont pas phosphorylées et sont inactives. Notez que MCP, CheA et CheZ sont des homodimères. CheW, CheB, CheY et CheR sont des monomères.

L'exposé qui précède implique que l'état des MCP soit communiqué au système de phosphorelais CheA/CheY. Comment cela se fait-il ? Les MCP sont encastrées dans la membrane plasmique, avec différentes portions exposées sur chacune des faces (Fig. 06c). Du côté périplasmique, chaque MCP présente un site de fixation pour une ou plusieurs molécules attractives. La face cytoplasmique d'une MCP interagit avec deux protéines. CheW et CheA. La protéine CheW se lie au MCP et facilite l'attachement de CheA à une MCP. Avec CheW et CheA, les récepteurs MCP forment de grands clusters, à l'un ou aux deux pôles de la cellule (Fig. 06b). On pense que de plus petites agrégations de MCP, CheA et CheW, qui fonctionnent comme unité de transmission de signaux, sont les éléments de base de ces clusters récepteurs (Fig. 07). Les unités de transmission de signaux s'interconnectent par un mécanisme inconnu pour former les complexes récepteurs visibles aux pôles de la cellule.

Il existe des preuves que les MCP de chaque unité de transmission de signaux agissent de façon coopérative pour moduler l'activité de CheA. Quand aucune des MCP de l'unité de transmission de signaux n'est liée à une molécule attractive, l'autophosphorylation de CheA est inhibée, la rotation du flagelle reste antihorlogique et la cellule poursuit sa course. Grâce à cette coopération, la cellule peut répondre à de très faibles concentrations de substance attractive. En outre, elle peut intégrer des signaux venus de tous les récepteurs de l'unité (Fig. 07). D'autre part, si les teneurs en substances attractives diminuent, de sorte que leur taux de fixation aux MCP dans une unité de transmission de signaux décroisse, l'autophosphorylation de CheA est stimulée, le phosphate est transféré à CheY, et la cellule se met à culbuter. Le mouvement de culbute ne se poursuit cependant pas indéfiniment. Environ 10 secondes après le passage à la rotation horlogique, le groupement phosphore est enlevé de CheY par la protéine CheZ et la rotation antihorlogique est rétablie.



**Figure 07:** Protéines chimiotactiques acceptrices de méthyle d'*E.coli*.

(La figure montre les substances attractives perçues par chaque protéine chimiotactique acceptrice de méthyle (MCP). Certaines sont détectées directement, lorsqu'elles se fixent à la MCP (lignes pleines).

D'autres le sont indirectement (lignes pointillées). Les substances attractives suivantes, maltose, dipeptides, galactose et ribose sont détectées par interaction avec des protéines fixatrices périplasmiques. La détection de l'oxygène se fait indirectement, par le chimiorécepteur Aer qui diffère des autres MCP par l'absence d'un domaine senseur périplasmique. A la place, le domaine cytoplasmique possède un site de liaison pour le FAD. Le FAD est un important transporteur d'électrons qu'on trouve dans de nombreux systèmes de transfert d'électron. Celui-ci entraîne en retour une réponse chimiotactique à l'oxygène).

Mais comment *E.coli* mesure-t-il la concentration de la substance attractive dans son environnement et comment sait-il qu'il se dirige vers cette substance ? *E.coli* mesure la concentration d'une substance attractive toutes les quelques secondes et détermine si cette concentration augmente ou diminue avec le temps. Tant que la concentration augmente, la cellule poursuit sa course. Si la concentration précédente diminue, cela déclenche une culbute. Pour comparer les concentrations de la substance attractive au cours du temps, *E.coli* doit disposer d'un mécanisme pour se « souvenir » de la concentration précédente. *E.coli* y parvient en comparant le niveau global de méthylation des MCP (sur sa partie cytoplasmique) avec la quantité globale de substance attractive fixée (sur la partie périplasmique). La partie cytoplasmique de chaque MCP possède de quatre à six sites susceptibles d'être méthylés. Tant que la concentration en substance

attractive continue d'augmenter, le nombre de MCP liées à la substance attractive reste élevé, de même que le degré de méthylation de la MCP (c.-à-d., une partie ou la totalité des sites sont méthylés). Mais si la concentration en substance attractive diminue, le taux de méthylation excédera le niveau de substance attractive fixée. Cette disparité entre degré de méthylation et quantité de substance attractive liée aux MCP stimule l'autophosphorylation de CheA. En conséquence, le signal du phosphorelais pour la rotation horlogique du flagelle est donné et la cellule culbute afin de se réorienter dans le gradient et remonte ainsi dans le gradient (vers la substance attractive), plutôt que de le descendre (en s'éloignant de la substance attractive). En même temps, certains des groupements phosphorylés sont détachés des MCP par la méthylestérase CheB, ce qui établit un niveau de méthylation en proportion avec le nombre de MCP liées à la substance attractive. Quelques secondes plus tard, le nombre de MCP liées sera comparé à ce nouveau degré de méthylation. Sur base de la correspondance entre ces deux paramètres, la cellule déterminera si elle remonte toujours le gradient. Si c'est le cas, elle cessera les culbutes et la course continuera.