



HAL
open science

Analyse de la division cellulaire de la Cyanobactérie sphérique *Synechocystis* PCC6803

Martial Marbouty

► **To cite this version:**

Martial Marbouty. Analyse de la division cellulaire de la Cyanobactérie sphérique *Synechocystis* PCC6803. Sciences du Vivant [q-bio]. Université Paris Sud - Paris XI, 2009. Français. NNT : . tel-00553297

HAL Id: tel-00553297

<https://theses.hal.science/tel-00553297>

Submitted on 7 Jan 2011

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

UNIVERSITE PARIS XI

THESE

Pour obtenir le grade de

DOCTEUR EN SCIENCES DE L'UNIVERSITE PARIS XI

Ecole doctorale Gènes Génomes Cellules

Présentée et soutenue publiquement

Par

Martial MARBOUTY

Le 18 Septembre 2009

**Analyse de la division cellulaire de la
Cyanobactérie sphérique *Synechocystis*
PCC6803**

Directeur de Thèse : **Dr Franck CHAUVAT**

Jury

Pr Cheng-Cai ZHANG

Rapporteur

Dr Daniel LADANT

Rapporteur

Pr Fabrice CONFALONIERI

Président

Dr Frédéric BOCCARD

Examineur

Dr Franck CHAUVAT

Examineur

Remerciements

Je souhaite tout naturellement remercier les membres de mon jury qui ont trouvé du temps à m'accorder et plus spécialement Fabrice Confalonieri, qui me suit depuis ma maîtrise et a gentiment accepté d'être mon tuteur de thèse. Merci à Daniel Ladant et Cheng-Cai Zhang d'avoir accepté d'être rapporteur de ma thèse et Frédéric Boccard d'être examinateur.

Je tiens à remercier les différents directeurs de département que j'ai connu au cours de ma thèse et qui m'ont accueilli pour ce travail, Pierre Legrain et Michel Riva. Un grand merci également aux chefs du service qui m'ont permis de travailler dans les meilleures conditions possibles, Michel Toledano, Michel Werner et dernièrement Cristophe Carles.

Bien sûr, je dédie ces remerciements à mon directeur de thèse Franck Chauvat et évidemment à Corinne. Je suis rentré dans leur laboratoire pour mon DEA et dès lors, de par leur exemple et leurs conseils, ils ont su me montrer le réel métier de chercheur ; comment faire une bonne recherche, construire un projet solide, présenter et mettre en valeur ces résultats, avoir une réflexion approfondie et du recul sur son travail.

Merci à toutes les personnes que j'ai pu croiser durant ma thèse et qui m'ont apporté énormément d'une manière ou d'une autre : Manu, Noëlle, Nayla, Soizick, Francis, Khalil, Benoît, Laetitia, Régis, Martin, Maude, Simon, Natacha, Sylvie, Tic&Tac, Line, Bénédicte, Guillaume, Magali et j'en oublie sûrement ... désolé pour ceux là.

Je suis bien obligé de citer mes acolytes des pauses clopes sans qui ces interludes n'auraient pas eu le même charme et la même ambiance, tout particulièrement en plein hiver lorsqu'il faisait un froid de canard : Georgette, La chef, Gillou, Chitranshu, Drinedrine.

Bien sûr, je n'oublierai pas mes collègues de course du midi: Peggy, JC, Jean, Yves, Kinsley et une spéciale dédicace à mon lièvre Stéphane sans qui je n'aurais jamais fait ce marathon !!!

Je réserve une place toute particulière à l'ensemble des personnes passées par mon laboratoire

Sandrine, notre Rastafou... qui m'a si souvent ramené chez moi; Badrish, le roi de la blague; Panatda, qui n'a jamais réussi à s'habituer aux températures; Ju Yuan, le sarcouilleur de service ; Cyril, la mule ; Antoine, le mangeur de muffin ; Pierre, Cédric, Virginie et Claire

Comment ne pas citer mon acolyte de service, mon soutien permanent, ma tête de turc, mon pote de blague : J'ai nommé Keke !!! Un grand merci pour ces quatre années passées ensemble dans la joie et la bonne humeur... Bon courage pour la suite.

Une thèse est une épreuve de longue haleine et je ne pense pas que j'aurais pu réussir sans le soutien inconditionnel de tous mes potes et particulièrement de ceux qui partagent cette expérience si particulière: PO, Guinard, Soso, et Zuzul. N'oublions pas, bien sûr, toute la bande de la vallée : Olive, Stancy, Jeannot LeBelge, Jule, Barbischtroumpf, Fefe, Chaps, Karibou, Tom, Bamby, Flonflon, Tonte de mouton, Cilcao, Beuz et Corsu.

Un grand merci à l'ensemble de ma famille ; une mention spéciale pour ma sœur à qui je m'empresserai d'aller montrer mon diplôme.

Enfin, mes pensées vont bien sur vers la femme de ma vie, la mère de mon enfant, celle qui n'a jamais cessé de me soutenir, m'a aidée dans ma réflexion ; ma bouée de sauvetage, mon phare, Ma Princesse : Julie.

Un grand GRAND MERCI à tous !!!!

Table des Matières

I. Introduction	19
A. La division cellulaire chez les bactéries hétérotrophes <i>E. coli</i> et <i>B. subtilis</i>	26
A.1. Positionnement du plan cytokinétique au milieu de la cellule	27
A.1.1. Le système Noc	28
A.1.2. Le système Min	30
A.1.2.1. Chez <i>E. coli</i>	30
A.1.2.2. Chez <i>B. subtilis</i>	33
A.2. L'anneau Z : la charpente et le moteur du complexe de cytokinèse	36
A.2.1. La protéine FtsZ, l'homologue structural de la tubuline	36
A.2.1.1. Caractéristiques générales	36
A.2.1.2. Structure et polymérisation	37
A.2.1.3. Le processus de constriction	41
A.2.2. Les partenaires cytoplasmiques de la protéine FtsZ	43
A.2.2.1. <i>FtsA</i> est la première protéine recrutée par <i>FtsZ</i>	43
A.2.2.2. <i>ZapA</i> participe aux interactions latérales entre les protofilaments de <i>FtsZ</i>	48
A.2.2.3. <i>SepF</i> favorise la polymérisation de <i>FtsZ</i>	49
A.2.2.4. <i>ClpX</i> inhibe la polymérisation de <i>FtsZ</i>	50
A.2.2.5. <i>SulA</i> bloque la polymérisation de <i>FtsZ</i> lors de l'activation du système S.O.S.	50
A.2.3. Les partenaires membranaires de <i>FtsZ</i>	51
A.2.3.1. La protéine <i>ZipA</i> d' <i>E. coli</i>	52
A.2.3.2. La protéine <i>EzrA</i> de <i>B. subtilis</i>	53
A.3. La machinerie de synthèse du peptidoglycane	54
A.3.1. La structure du peptidoglycane	55
A.3.2. Synthèse du peptidoglycane : rôle des « Penicillin Binding Proteins » (PBPs)	56
A.3.2.1. Les PBPs de haut poids moléculaires de classe A	58
A.3.2.2. Les PBPs de haut poids moléculaires de classe B	58
A.3.2.3. Les PBPs de faible poids moléculaire	60
A.3.3. Le complexe de synthèse du peptidoglycane septal	61
A.3.3.1. Dynamique d'assemblage du complexe chez <i>E. coli</i> et <i>B. subtilis</i>	61
A.3.3.2. Le complexe <i>FtsE/FtsX</i> d' <i>E. coli</i> intervient dans la stabilisation du complexe de cytokinèse en conditions de stress osmotique	64
A.3.3.3. Le rôle de la protéine <i>FtsK</i> dans les processus de cytokinèse et de ségrégation des chromosomes	64
A.3.3.4. La protéine <i>FtsQ</i> , un acteur central du complexe de cytokinèse	68
A.3.3.5. Le complexe <i>FtsL/FtsB</i> contrôle l'assemblage du complexe de cytokinèse	70
A.3.3.6. La protéine <i>FtsW</i> , la probable translocase des précurseurs de la synthèse du peptidoglycane	71

A.3.3.7.	<i>La protéine FtsN, un lien entre le complexe de cytokinèse et le peptidoglycane</i>	72
A.3.4	La fermeture du septum	73
A.3.5	Le complexe d'élongation et de synthèse du peptidoglycane périphérique	75
A.3.5.1.	<i>Rôle des protéines RodA et PBP2</i>	76
A.3.5.2.	<i>Rôle des protéines du groupe Mre</i>	77
A.3.5.3.	<i>Rôle de FtsZ</i>	79

B. La division cellulaire chez les cyanobactéries _____ **80**

B.1.	Les cyanobactéries: des organismes importants pour la biosphère et la biodiversité	80
B.1.1	Diversité morphologique des cyanobactéries	82
B.2.	La division cellulaire chez la cyanobactérie modèle <i>Synechocystis</i> PCC6803	83
B.3.	La machinerie cytokinétique des cyanobactéries	85
B.3.1	La protéine FtsZ	85
B.3.2	La protéine ZipN, un partenaire essentiel de FtsZ	85
B.3.3	Le système Min	87
B.3.4	La protéine Ftn6	88

II. Résultats _____ **89**

Article 1 :	_____	91
Article 2	_____	109
Article 3	_____	121
Article 4	_____	137
Résultats Supplémentaires	_____	149

III. Discussion & Perspectives _____ **155**

A. Analyse comparative de la cytokinèse des cyanobactéries *Synechocystis* (sphérique) et *S. elongatus* (cylindrique) _____ **158**

A.1.	La formation de l'anneau Z	158
A.2.	Le système Min	160

A.3.	La morphologie _____	161
B.	Le complexe de cytokinèse de <i>Synechocystis</i> _____	162
B.1.	Les partenaires de FtsZ _____	162
B.1.1	SepF est un régulateur de la polymérisation de FtsZ chez <i>Synechocystis</i> _____	163
B.1.2	ZipS/Ftn6 est impliqué dans la symétrie de la constriction et pourrait constituer un lien entre la réplication des chromosomes et la cytokinèse _____	164
B.2.	Cdv3 est une nouvelle protéine cytokinétique _____	166
B.3.	YlmD pourrait être un lien entre le complexe de cytokinèse et la membrane externe_	168
B.4.	Les facteurs FtsQ, FtsI et FtsW sont impliqués dans la synthèse du peptidoglycane septal _____	168
B.5.	Rôle des PBPs dans la cytokinèse et la morphologie de <i>Synechocystis</i> _____	170
B.5.1	Les PBPs de classe A et B _____	170
B.5.2	Les PBPs de classe C _____	172
B.5.2.1.	Les PBPs de type endopeptidase _____	172
B.5.2.2.	Les PBPs de type <i>AmpH</i> _____	173
B.6.	ZipN est le coordinateur central du complexe de cytokinèse de <i>Synechocystis</i> _____	174
C.	Proposition d'un modèle de travail représentatif de l'appareil cytokinétique de <i>Synechocystis</i> _____	176
D.	Comparaison de l'appareil cytokinétique cyanobactérien et chloroplastique __	179
E.	Perspectives _____	181
IV.	Annexe _____	183
V.	Références _____	205

Liste des Figures et Tableaux

FIGURE 1 :	SCHEMA DES DIFFERENTS TYPES DE DIVISIONS CELLULAIRES RENCONTREES CHEZ LES BACTERIES	23
FIGURE 2 :	LE CYCLE CELLULAIRE BACTERIEN	24
FIGURE 3 :	REPRESENTATION DES PLANS MEDIANS DE DIVISION D'UN CYLINDRE (A) ET D'UNE SPHERE (B)	25
FIGURE 4 :	SCHEMA DES ZONES D'ACTION DES SYSTEMES MIN ET NOC	27
FIGURE 5 :	REPRESENTATION DES MECANISMES D'ACTION DES PROTEINES NOC ET SLMA AU COURS DE LA REPLICATION DU CHROMOSOME	29
FIGURE 6 :	REPRESENTATION DU FONCTIONNEMENT DU SYSTEME MIN CHEZ <i>E. COLI</i>	32
FIGURE 7 :	MODELE DE FONCTIONNEMENT DU SYSTEME MIN CHEZ <i>B. SUBTILIS</i>	35
FIGURE 8 :	STRUCTURE TRIDIMENSIONNELLE DE LA PROTEINE FtsZ ET DE L'HETERODIMERE DE TUBULINE □/β	38
FIGURE 9 :	REPRESENTATION DES ETAPES DE POLYMERISATION DE FtsZ	40
FIGURE 10 :	REPRESENTATION DU MODELE DE CONSTRICTION PAR PINCEMENT REPETE DES POLYMERES DE FtsZ	42
FIGURE 11 :	ALIGNEMENT DES STRUCTURES SECONDAIRES DE LA PROTEINE FtsA ET DE L'ACTINE DES EUCARYOTES	44
FIGURE 12 :	REPRESENTATION TRIDIMENSIONNELLE DE LA PROTEINE FtsA DE <i>T. MARITIMA</i> , ET DES ACIDES AMINES DE FtsA D' <i>E. COLI</i> IMPORTANTS POUR L'INTERACTION AVEC FtsZ	46
FIGURE 13 :	LA REGION C-TERMINALE DE FtsA CONTIENT UN MOTIF CONSERVE QUI A LA CAPACITE DE FORMER UNE HELICE AMPHIPATHIQUE	47
FIGURE 14 :	REPRESENTATION D'UN MODELE DE LA FONCTION DE LA PROTEINE ZAPA LORS DE LA FORMATION DE L'ANNEAU DE FtsZ	48
FIGURE 15 :	STRUCTURE DE LA PROTEINE SULA SEULE ET EN COMPLEXE AVEC FtsZ	51
FIGURE 16 :	REPRESENTATION EN TROIS DIMENSIONS DE LA STRUCTURE DE LA PAROI DES BACTERIES GRAM POSITIVES (A) ET GRAM NEGATIVES (B)	54
FIGURE 17 :	REPRESENTATION SCHEMATIQUE DE LA STRUCTURE DU PEPTIDOGLYCANE	56
FIGURE 18 :	REPRESENTATION DE L'ACTIVITE DE DIFFERENTES PBPs DE <i>E. COLI</i>	57
FIGURE 19 :	REPRESENTATION D'UN MODELE POUR L'INSERTION DE NOUVEAUX BRINS DE PEPTIDOGLYCANE	59
FIGURE 20 :	REPRESENTATION TRIDIMENSIONNELLE DE L'AGENCEMENT DANS LA MEMBRANE DE <i>E. COLI</i> DE DIFFERENTES PBPs	60
FIGURE 21 :	SCHEMA DES CONDITIONS DE RECRUTEMENT AU SEPTUM DES PROTEINES DU COMPLEXE DE DIVISION CHEZ <i>E. COLI</i> (A) ET <i>B. SUBTILIS</i> (B)	62
FIGURE 22 :	PRESENTATION D'UN SCHEMA DU COMPLEXE DE CYTOKINESE DE <i>E. COLI</i> (A) ET DES DIFFERENTS ACTEURS DE LA CYTOKINESE BACTERIENNE DE <i>E. COLI</i> ET <i>B. SUBTILIS</i> (B)	63
FIGURE 23 :	IMAGES DE LA STRUCTURE CRISTALLOGRAPHIQUE D'UN HEXAMERE DE FtsK DE <i>P. AERUGINOSA</i>	65

FIGURE 24 :	SCHEMA DU ROLE DE FtsK LORS DE LA SEGREGATION DES CHROMOSOMES AU COURS DE LA SEPTATION	67
FIGURE 25 :	REPRESENTATION TRIDIMENSIONNELLE DE LA PARTIE PERIPLASMIQUE DE FtsQ DE <i>E. COLI</i> (RESIDUS 58-259) ET <i>YERSINA ENTEROCOLITICA</i> (RESIDUS 55- 258)	68
FIGURE 26 :	SCHEMA DE LA TOPOLOGIE MEMBRANAIRE DE LA PROTEINE FtsW DE <i>S. PNEUMONIAE</i> .	72
FIGURE 27 :	SCHEMA DU PROCESSUS DE CONSTRICTION ET DE SEPARATION DES DEUX CELLULES FILLES CHEZ <i>E. COLI</i> ET <i>B. SUBTILIS</i>	73
FIGURE 28 :	SCHEMA DES DIFFERENTS LIEUX DE SYNTHESE DU PEPTIDOGLYCANE CHEZ <i>E. COLI</i> , <i>B. SUBTILIS</i> , <i>S. PNEUMONIAE</i> ET <i>S. AUREUS</i> .	76
FIGURE 29 :	REPRESENTATION SCHEMATIQUE DU COMPLEXE D'ELONGATION	78
FIGURE 30 :	IMAGES SATELLITES MONTRANT LA DISTRIBUION GLOBALE DU PHYTOPLANCTON (CYANOBACTERIES ET ALGUES).	81
FIGURE 31 :	PHOTOS DE DIFFERENTES ESPECES CYANOBACTERIENNES	82
FIGURE 32 :	COUPE D'UNE CELLULE DE <i>SYNECHOCYSTIS</i> PCC6803 OBSERVEE EN MICROSCOPIE ELECTRONIQUE.	84
FIGURE 33 :	PHOTOS EN MICROSCOPIE (OBJECTIF 100x) DE LA SOUCHE SAUVAGE ET DE DIFFERENTS MUTANTS CONTRUITS AU COURS DE MA THESE	151
FIGURE 34 :	REPRESENTATION DU PLASMIDE PSM ET DE SA CONSTRUCTION A PARTIR DU PSB2ATAC (DIGESTION <i>Sma</i> I ET RELIGATION)	153
FIGURE 35 :	PHOTOS EN MICROSCOPIE ILLUSTRANT LES ENCHAINEMENTS DE PLANS DE DIVISION DE <i>SYNECHOCYSTIS</i> .	158
FIGURE 36 :	REPRESENTATION SCHEMATIQUE DE L'ENCHAINEMENT DES DIVISIONS ENTRE DEUX CYANOBACTERIES DE MORPHOLOGIE DIFFERENTES : <i>S. ELONGATUS</i> , CYLINDRIQUE (A) ET <i>SYNECHOCYSTIS</i> , SPHERIQUE (B)	159
FIGURE 37 :	PHENOTYPES DES MUTANTS DU SYSTEME MIN DES BACTERIES <i>E. COLI</i> (DE BOER, ET AL., 1988), <i>S. ELONGATUS</i> (MIYAGISHIMA, ET AL., 2005) ET <i>SYNECHOCYSTIS</i> (MAZOUNI, ET AL., 2004).	160
FIGURE 38 :	PHENOTYPES FREQUEMMENT OBSERVES CHEZ LE MUTANT Δ <i>CDV3</i> + pSZ-GFP (A) ET PROPOSITION D'UN MODELE POUR LE ROLE DE LA PROTEINE CDV3 (B)	167
FIGURE 39 :	PHOTOS EN MICROSCOPIE ELECTRONIQUE D'UNE CELLULE DE <i>SYNECHOCYSTIS</i> EN DIVISION	173
FIGURE 40 :	REPRESENTATION DU ROLE CENTRAL DE LA PROTEINE ZipN DANS LE COMPLEXE DE CYTOKINESE DE <i>SYNECHOCYSTIS</i>	175
FIGURE 41 :	REPRESENTATION DU CYCLE CELLULAIRE DE <i>SYNECHOCYSTIS</i> .	177
FIGURE 42 :	MODELE DU COMPLEXE DE CYTOKINESE DE <i>SYNECHOCYSTIS</i>	178
FIGURE 43 :	MODELE DU COMPLEXE DE DIVISION DU CHLORPLASTE CHEZ <i>A. THALIANA</i>	180
TABLEAU 1 :	RESULTATS DU CRIBLE DOUBLE-HYBRIDE REALISE DURANT MA THESE _____	152

Résumé

La division cellulaire est un processus quasi-universel permettant aux cellules de se propager. Elle comprend l'ensemble des mécanismes moléculaires qui permettent à une cellule de dupliquer fidèlement et de partager équitablement son information génétique entre deux cellules filles de même taille dans le cas fréquent de la division cellulaire symétrique qui fait l'objet de cette thèse.

Chez les bactéries, pour des raisons historiques, ce phénomène a principalement été étudié chez les deux organismes cylindriques *Escherichia coli* et *Bacillus subtilis*. Leur cycle cellulaire comprend une phase d'élongation impliquant la synthèse du peptidoglycane dit "périphérique" concomitante à la réplication du génome. Cette étape est suivie de l'assemblage au milieu de la cellule, le futur site de division, d'un "anneau" résultant de la polymérisation de la protéine FtsZ (homologue structural de la tubuline). Cet anneau "Z" sert de charpente à l'assemblage du complexe cytokinétique, qui comprend au moins une douzaine de protéines impliquées dans le processus de septation, c'est-à-dire la synthèse du peptidoglycane septal, l'invagination membranaire, la fermeture du septum, la séparation des deux cellules filles ainsi que les dernières étapes de la ségrégation des chromosomes.

La cytokinèse demeure largement méconnues chez les bactéries sphériques dont les cellules possèdent, contrairement aux cylindriques, une infinité de plans médians potentiels. Ces organismes comprennent notamment de nombreux pathogènes (*Streptococcus*, *Staphylococcus*) et un certain nombre de cyanobactéries (*Synechocystis PCC6803*, *Mycrocystis Aeruginosa* ...). Ces dernières sont des organismes importants pour la biosphère et possèdent un fort potentiel biotechnologique. Elles sont également intéressantes pour l'analyse comparative de la morphogénèse et la cytokinèse des cellules sphériques et cylindriques dans un contexte physiologique très semblable (le métabolisme photo-autotrophique). En effet, de nombreuses cyanobactéries ont une morphologie cellulaire sphérique tandis que les autres sont cylindriques. Les cyanobactéries, notamment les espèces sphériques, sont également intéressantes pour aider à comprendre la division du chloroplaste qui a une morphologie sphérique et dérive d'une cyanobactérie ancestrale. C'est pour ces différentes raisons que j'ai analysé la cytokinèse de la cyanobactérie sphérique *Synechocystis PCC6803*, qui se prête bien aux approches de génomique fonctionnelle grâce aux outils développés au laboratoire.

Au début de ma thèse, seul quatre facteurs cytokinétiques de *Synechocystis* (FtsZ, ZipN, et MinCDE) avait été identifiés, grâce aux travaux de notre équipe. Mon travail a débuté par l'identification de facteurs cytokinétiques possible de *Synechocystis*, en recherchant des orthologues putatifs des protéines du divisome d'*E. coli* et *B. subtilis*. Nous avons ainsi repéré 24 protéines potentiellement impliquées dans la division cellulaire de *Synechocystis*. Ces 24 protéines ont été analysées comme suit: (i) construction et analyse phénotypique (croissance et cytokinèse) de mutants dépourvus (en totalité, ou en partie quand la protéine est indispensable à la croissance) d'un ou plusieurs facteurs; (ii) recherche d'interactions protéiques entre ces nouveaux facteurs et ceux caractérisés auparavant (FtsZ et ZipN; 23 interactions détectées sur 300 testées); (iii) localisation subcellulaire de ces nouveaux facteurs; et (iv) influence de l'absence (totale ou partielle) de ces nouveaux facteurs cytokinétiques sur la localisation des polymères de FtsZ (qui ne demeurent pas toujours capables de former un anneau au milieu des cellules).

Ces travaux m'ont permis de caractériser 14 facteurs cytokinétiques. Six (SepF, ZipS/Ftn6, DivIVA, FtsQ, FtsI et FtsW) sont essentiels à la croissance, ainsi qu'à la cytokinèse et/ou la morphogénèse de *Synechocystis*. Sept facteurs (les "penicillin-binding proteins": PBP1, PBP2, PBP3, PBP5, PBP8, PBP6, PBP7) participent à la cytokinèse et/ou à la morphogénèse sans être essentiels. Le dernier facteur (YlmD), semble ne pas intervenir dans la croissance (dans les conditions très favorable du laboratoire) et la morphogénèse mais présente des interactions avec certaines protéines cytokinétiques clés (ZipN, FtsQ et FtsI).

J'ai notamment montré : (i) l'importance de chaque classe de PBPs pour la morphogénèse et/ou la cytokinèse ; (ii) leurs interactions avec les facteurs cytokinétiques FtsQ, FtsI et FtsW, vraisemblablement impliqués la synthèse du peptidoglycane septal (Article 1); (iii) que les protéines SepF et ZipS/Ftn6 se localisent au septum, en interagissent physiquement avec la protéine FtsZ, et qu'elles influencent la formation et le positionnement des polymères de FtsZ, normalement en anneau au milieu des cellules. SepF est d'ailleurs capable de stimuler la polymérisation de FtsZ *in vitro* (Article 2); (iv) ZipS/Ftn6 possède un domaine N-terminal analogue (séquence et structure) avec le domaine DnaD de divers facteurs d'initiation de la réplication suggérant que ZipS/Ftn6 pourrait participer au dialogue entre la réplication du génome et la cytokinèse (Article 4); (v) Finalement, j'ai montré que ZipN joue un rôle central dans l'organisation du divisome de *Synechocystis*, et (vi) intégré et représenté l'ensemble des données disponibles dans un modèle de travail (le premier modèle pour une cyanobactérie, Article 3).

I.

Introduction

La capacité à croître et à se diviser est une propriété fondamentale du monde vivant dont la cellule est l'unité de base. Ainsi, toute cellule alterne des phases de croissance (grossissement) et de division (cytokinèse). Dans le cas le plus fréquent, cette division se fait en deux cellules filles identiques (morphologie, génome, taille, etc.), on parle alors de division symétrique. C'est l'étude de ce processus vital qui fait l'objet de cette thèse.

Découverte il y a plus de 150 ans, la division cellulaire a été intensivement étudiée dans plusieurs organismes modèles: eucaryotes (les levures et les mammifères par exemple) et procaryotes (*Escherichia coli* et *Bacillus subtilis*).

L'analyse des processus moléculaires de cytokinèse présente à la fois un intérêt fondamental et finalisé. Du point de vue fondamental, on étudie quand et comment les cellules décident de se diviser, comment elles le font, et comment ces processus fondamentaux ont été conservés, ou réinventés, au cours de l'évolution. Ces travaux présentent aussi un intérêt biotechnologique car la machinerie de division cellulaire est une cible privilégiée pour le développement de molécules thérapeutiques antibiotiques et/ou anticancéreuses. Dans le cas des antibiotiques, on vise à perturber la division des microorganismes infectieux, sans affecter celles des cellules humaines. Au laboratoire, nous étudions la cytokinèse d'organismes procaryotes, les cyanobactéries, qui ont façonné la planète (génération de l'atmosphère oxygénique), et continuent d'avoir un fort impact sur l'environnement (renouvellement de l'atmosphère oxygénique, production de biomasse pour la chaîne alimentaire). Ces microorganismes ont également un fort potentiel biotechnologique (production de molécules thérapeutiques, de bioplastiques et de bioénergies) (Abed, et al., 2009; Dismukes, et al., 2008; Ghirardi, et al., 2009; Williams, 2009).

Notre démarche est de type "recherche fondamentale". Nous souhaitons caractériser l'appareil cytokinétique cyanobactérien pour, à terme, identifier les relations moléculaires entre le métabolisme, qui soutient la croissance, et la cytokinèse. Nous souhaitons également comprendre dans quelle mesure la machinerie cytokinétique cyanobactérienne a été conservée chez le chloroplaste des plantes, qui dérive de l'endosymbiose d'une cyanobactérie ancestrale dans le proto-eucaryote (Gray, 1993).

Chez les bactéries, on distingue deux types de division cellulaire (Figure 1) :

- Une division symétrique où la cellule mère se divise pour donner naissance à deux cellules filles de taille équivalente, permettant ainsi la propagation des cellules dans un milieu donné. C'est le mode de multiplication le plus répandu chez les bactéries. Elle implique : (i) une réplication du matériel génétique ; (ii) un partage équivalent de ce matériel ; (iii) et la séparation des deux cellules filles. Ce processus est donc très complexe et nécessite un grand nombre d'acteurs protéiques.
- Une division asymétrique, qui intervient généralement en réponse à des conditions environnementales défavorables à la croissance, où la cellule mère donne naissance à une spore par un processus nommé sporulation. Ce processus s'apparente plus à de la différenciation cellulaire mais il met en jeu des acteurs identiques ou très proches de ceux intervenant au cours la division cellulaire. Les spores possèdent généralement une paroi épaissie qui isole l'organisme du milieu extérieur défavorable (souvent appauvri en nutriments). Elles peuvent "germer" et redonner des cellules normales lorsque les conditions redeviennent favorables à la croissance. Un certain nombre d'organismes sont capables de réaliser le processus de sporulation : *B. subtilis*, *Caulobacter crescentus*, *Streptomyces* ou encore *Myxococcus*.

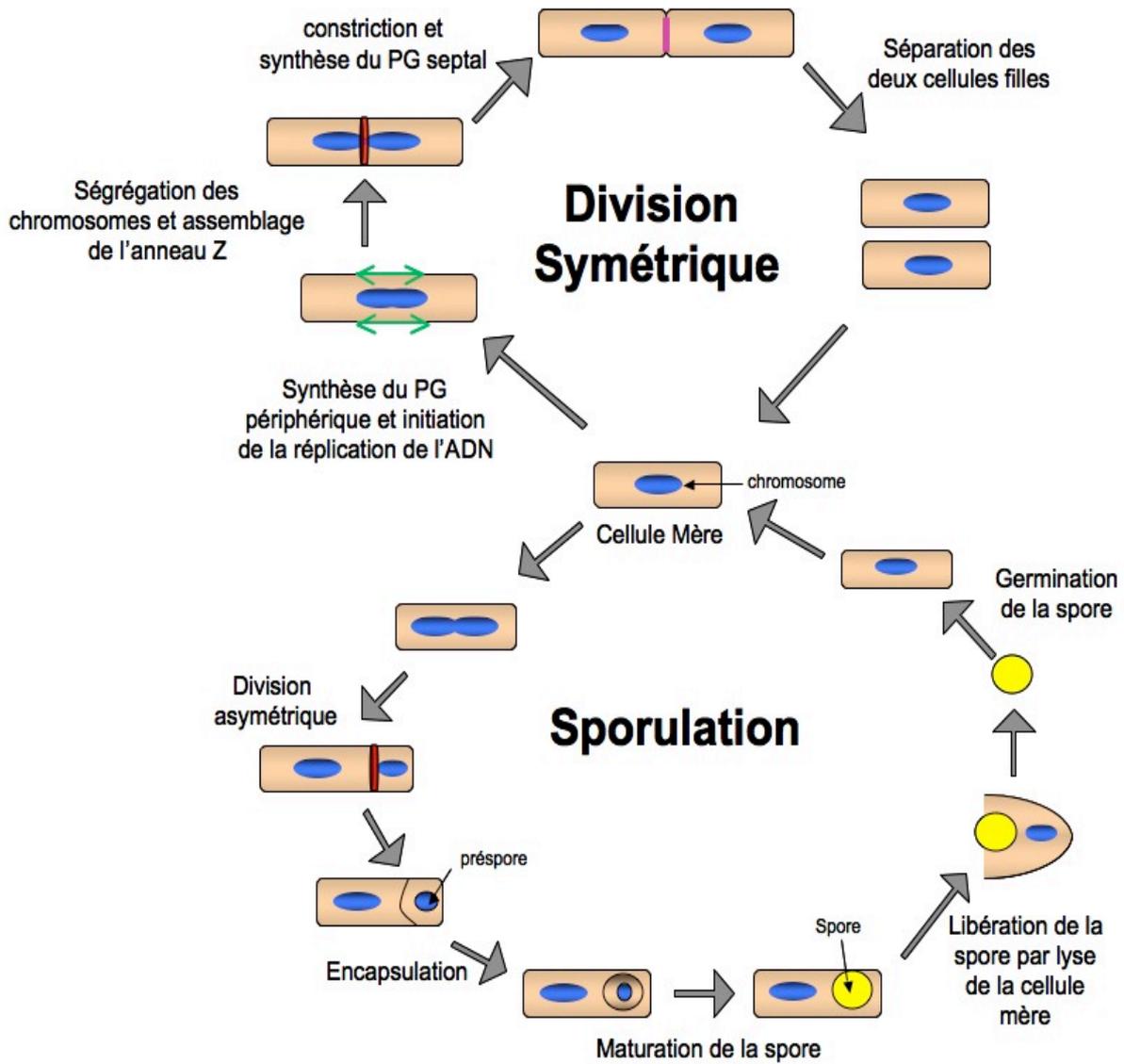


Figure 1 : Schéma des différents types de divisions cellulaires rencontrées chez les bactéries

PG – peptidoglycane (composant majeur de la paroi cellulaire des bactéries). La synthèse du peptidoglycane périphérique (grossissement des cellules) est indiquée par des flèches vertes. Le complexe de division est indiqué par un anneau rouge. La synthèse du peptidoglycane septal est indiquée en rose.

Au cours de ma thèse, je me suis intéressé à la cytokinèse "symétrique". Elle est réalisée par un important complexe protéique dont l'activité permet : (i) la ségrégation des chromosomes nouvellement dupliqués ; (ii) la synthèse du peptidoglycane septal; (iii) l'invagination de la (ou des) membrane(s) plasmiques au milieu de la cellule ; (iv) la séparation des deux cellules filles nouvellement créées.

Avant toute division, une cellule doit d'abord augmenter son volume, je me suis donc également intéressé au complexe de synthèse du peptidoglycane périphérique.

Les différentes étapes du cycle cellulaire bactérien sont schématisées dans la Figure 2.

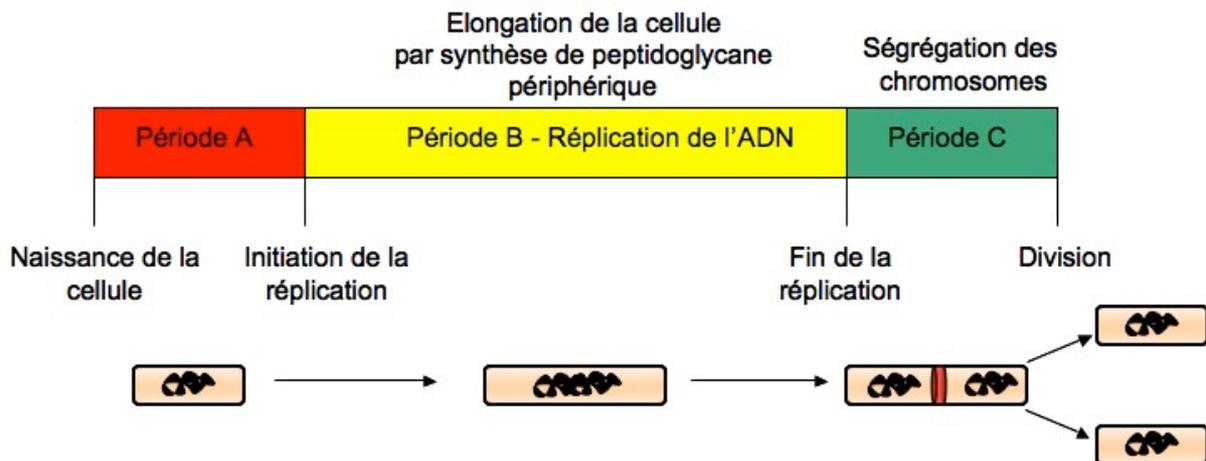


Figure 2 : Le cycle cellulaire bactérien

En croissance lente, le cycle cellulaire bactérien est divisé en 3 périodes bien définies : (i) la période A, de la naissance de la cellule à l'initiation de la réplication de l'ADN ; (ii) la période B, de l'initiation à la fin de la réplication (dans la majorité des cas, la croissance cellulaire est concomitante à la réplication de l'ADN) ; (iii) la période C, de la fin de la réplication à la division cellulaire. La séparation des chromosomes frères commence dès l'initiation de la réplication. La division commence dès que la ségrégation des chromosomes est achevée ou en phase d'achèvement (Haeusser and Levin, 2008).

Dans la nature, il existe deux grands types morphologiques de bactéries: les cellules cylindriques (bâtonnets) qui se divisent toujours dans un seul et même plan cytokinétique, et les cellules sphériques qui possèdent une infinité de plans cytokinétiques possibles (Figure 3). Pour des raisons historiques, la machinerie de division cellulaire a été essentiellement analysée chez les premières bactéries utilisées comme modèle de laboratoire: *E. coli* et *B. subtilis* qui sont toutes deux cylindriques. Très peu d'études concernent les bactéries sphériques, bien qu'elles soient très nombreuses parmi les pathogènes (entérocoques, pneumocoques, staphylocoques et streptocoques) ou les bactéries importantes pour l'environnement (les cyanobactéries).

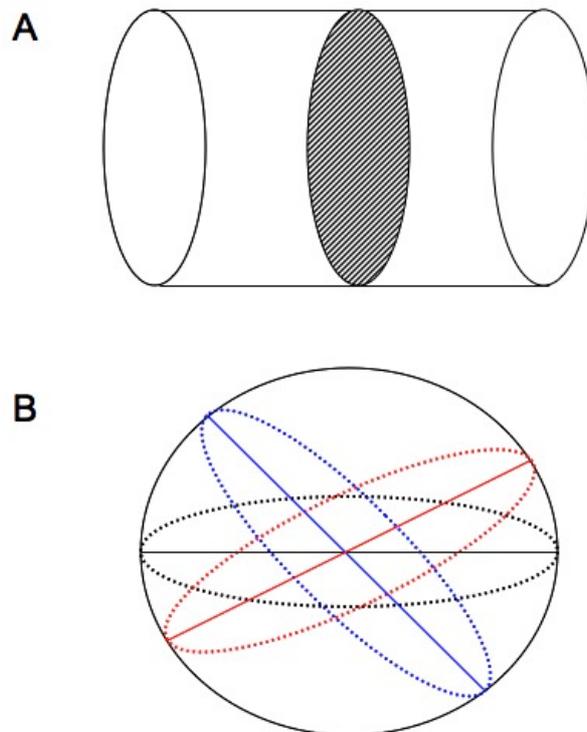


Figure 3 : Représentation des plans médians de division d'un cylindre (A) et d'une sphère (B)

A. La division cellulaire chez les bactéries hétérotrophes *Escherichia coli* et *Bacillus subtilis*

La division cellulaire a été principalement étudiée chez les deux bactéries cylindriques modèles *E. coli* et *B. subtilis*. Au cours des trente dernières années, une quinzaine de gènes directement impliqués dans la division cellulaire de ces deux organismes ont été identifiés (Errington, et al., 2003a). Pour la plupart, ils ont été nommés « *fts* », pour « filamentation thermosensible », en référence au phénotype consécutif à leur inactivation. Chez ces mutants la cytokinèse est fortement perturbée (constriction, synthèse du peptidoglycane septal, séparation des deux cellules filles) alors que la croissance cellulaire continue (synthèse du peptidoglycane périphérique) ; il en résulte un allongement des cellules qui « filamment ».

A l'heure actuelle le modèle cinétique général de la division cellulaire (la cytokinèse) comprend les étapes suivantes:

- La sélection du site de division, généralement au milieu de la cellule (cytokinèse symétrique), entre les deux nucléoïdes nouvellement dupliqués et ségrégés (le nucléoïde définit la zone où est concentrée l'ADN bactérien et les protéines qui lui sont rattachées).
- La formation d'un anneau stable de polymères de la protéine FtsZ, **l'anneau Z**, au niveau du futur site de division (septation) des deux cellules filles.
- L'assemblage d'un complexe multi-protéique membranaire, ou septosome, au niveau de la « charpente » formée par l'anneau Z.
- L'activation par ce complexe membranaire de la machinerie de synthèse du peptidoglycane septal responsable de l'invagination du manteau cellulaire (comprenant la ou les membranes plasmiques et le peptidoglycane).
- La séparation physique des deux cellules filles.

A.1. Positionnement du plan cytokinétique au milieu de la cellule

Il est généralement accepté que l'assemblage de l'anneau Z au milieu de la cellule est l'événement clé dans l'initiation de la division cellulaire symétrique. Toutefois, peu de choses sont connues sur les mécanismes moléculaires impliqués dans la régulation spatiale et temporelle de l'assemblage de ce complexe et la transition vers les étapes distales de constriction de la cellule mère et septation des deux cellules filles résultantes.

Pour assurer une division symétrique, on conçoit intuitivement que la bactérie doit d'une manière ou d'une autre pouvoir définir précisément son plan médian. Deux mécanismes moléculaires sont impliqués dans la sélection du site de division au milieu de la cellule (Figure 4). Les deux processus empêchent l'assemblage de l'anneau Z au niveau de l'ADN (le système Noc pour "nucleoid occlusion" – exclusion du nucléoïde) d'une part, ainsi qu'au niveau des deux pôles de la cellule d'autre part (le système Min pour « minicells »).

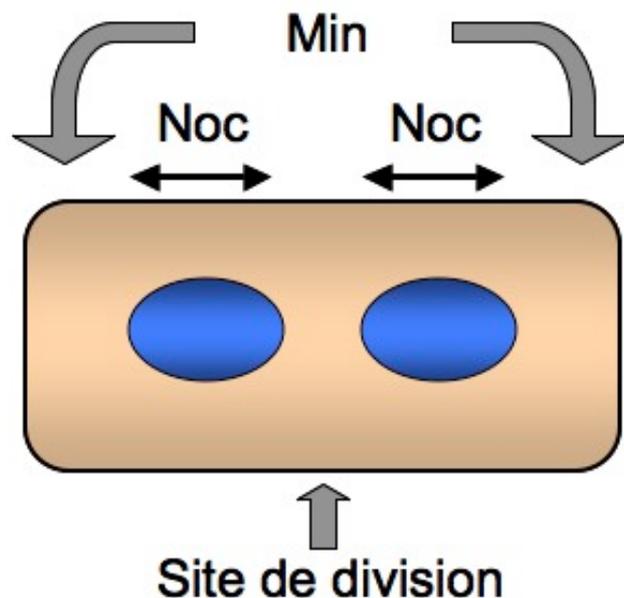


Figure 4 : Schéma des zones d'action des systèmes Min et Noc

A.1.1 Le système Noc

Plusieurs données indiquent que les cellules possèdent un mécanisme qui empêche la constriction de l'anneau Z au niveau des régions riches en ADN, évitant ainsi de fragmenter le génome de la cellule mère et donc la production de cellules filles possédant une partie du génome incomplet. Il semble donc que les bactéries aient développé un système capable de percevoir soit la présence de zones libres d'ADN ou, au contraire, la présence du nucléoïde.

Le système Noc a été révélé par l'observation que la division cellulaire est souvent inhibée à proximité du nucléoïde de cellules dont la réplication ou la ségrégation des chromosomes est perturbée (Mulder and Woldringh, 1989). Ainsi l'anneau Z est incapable de se former au dessus du nucléoïde. Des études réalisées chez *E. coli* et *B. subtilis* semble indiquer que, plus que la présence d'ADN, se serait sa concentration qui serait importante (Harry, 2001). L'observation que l'anneau Z s'assemble avant la ségrégation complète de chromosomes, est en faveur de cette hypothèse (Den Blaauwen, et al., 1999; Wu, et al., 1995).

En 2004, Wu et Errington ont identifié un effecteur spécifique du système de « nucleoid occlusion » chez *B. subtilis* (Wu and Errington, 2004). Ce facteur, YyaA (renommé Noc), semble inhiber la division cellulaire en se liant à l'ADN de manière non spécifique. Chez les mutants inactivés du gène *noc*, les sites de divisions sont ectopiques et se produisent régulièrement au niveau des nucléoïdes (Figure 4).

Un homologue fonctionnel de la protéine Noc a été identifié chez *E. coli* : la protéine SlmA (Bernhardt and de Boer, 2005). Le mécanisme par lequel SlmA agit sur l'exclusion du nucléoïde reste méconnu. Comme la protéine Noc, SlmA se lie de manière non spécifique à l'ADN et interagit physiquement avec FtsZ. SlmA pourrait, soit inhiber la polymérisation de FtsZ, soit prévenir l'association de facteurs stabilisant l'anneau Z, tels FtsA ou ZipA (voir plus loin) (Bernhardt and de Boer, 2005).

Les protéines Noc et SlmA ne se distribuent pas de manière homogène dans le nucléoïde; au cours de la ségrégation des chromosomes, leur concentration diminue au centre des nucléoïdes (Figure 5). Il est donc envisagé que ces deux protéines inhibent la polymérisation de FtsZ mais que la ségrégation des nucléoïdes crée une région libre au milieu de la cellule favorable à l'assemblage de l'anneau Z (Lutkenhaus, 2007a).

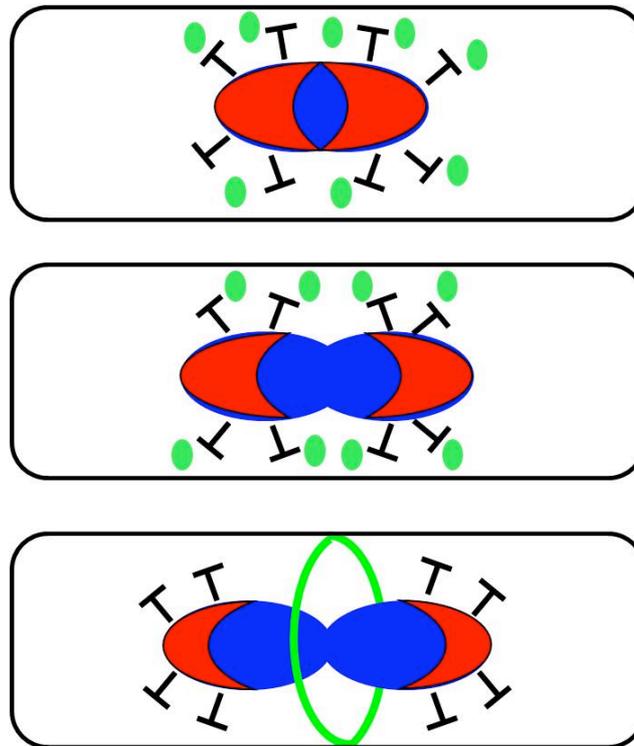


Figure 5 : Représentation des mécanismes d'action des protéines Noc et SlmA au cours de la réplication du chromosome

Le nucléoïde est représenté en bleu. Les protéines Noc (*B. subtilis*) ou SlmA (*E. coli*) sont représentées en rouge. Les monomères de FtsZ sont représentés par des sphères vertes. L'anneau Z (polymères de FtsZ) est représenté en vert. L'inhibition de la polymérisation de FtsZ par les protéines Noc ou SlmA est représentées par des T noirs. (Lutkenhaus, 2007a).

Bien que les phénotypes des mutants inactivés des gènes *noc* et *slmA* soient semblables ; ces deux protéines, qui sont présentes chez deux bactéries différentes (respectivement *B. subtilis* et *E. coli*) ne partagent pas d'homologie de séquence. Elles constituent, probablement, un bel exemple d'évolution convergente

A.1.2 Le système Min

En complément du système Noc, il existe un autre processus de positionnement de l'anneau Z au plan septal médian; le système Min. L'absence des facteurs de ce système autorise les divisions ectopiques au niveau des pôles cellulaires des mutants correspondants, et engendre la formation de minicellules.

A.1.2.1. Chez *E. coli*

Les gènes codant pour les composants du système Min forment un opéron regroupant les gènes *minC*, *minD* et *minE*. La délétion de l'intégralité de l'opéron minCDE n'est pas létale, mais elle produit des septations asymétriques (Davie, et al., 1984; de Boer, et al., 1988). Ce phénotype «mini-cellules» illustre bien la capacité de FtsZ à polymériser n'importe où le long du cylindre cellulaire et que le système Min contrôle le positionnement de l'anneau Z.

Les études génétiques et biochimiques indiquent que les protéines MinC et MinD forment un complexe membranaire inhibiteur de la polymérisation de FtsZ; tandis que la protéine MinE empêche le complexe MinCD d'inhiber la polymérisation de FtsZ au milieu de la cellule (de Boer, et al., 1992; de Boer, et al., 1989).

In vivo la sur-expression de MinC induit une forte filamentation de la cellule du fait de l'incapacité de l'anneau Z à se former. MinC interagit physiquement avec FtsZ (test double-hybride dans la levure *Sacharromyces cerevisiae* : YTH), dont il inhibe la polymérisation *in vitro* (Hu and Lutkenhaus, 2000). Il a été montré que MinC interagissait également avec MinD (Huang, et al., 1996). La structure tridimensionnelle de MinC (Cordell, et al., 2001) montre que cette protéine existe sous la forme d'un dimère composé de deux domaines reliés par un lien flexible. Le domaine N-terminal est nécessaire et suffisant pour l'interaction avec FtsZ et l'inhibition de sa polymérisation. Le domaine C-terminal intervient dans la dimérisation de la protéine et son interaction avec MinD (Cordell, et al., 2001).

MinD est une ATPase associée à la membrane interne (de Boer, et al., 1991; Hu, et al., 2002; Hu and Lutkenhaus, 2003). Elle a besoin de fixer de l'ATP pour dimériser et seule la forme dimérique est fonctionnelle. Elle est alors capable d'interagir avec MinC et de se

localiser à la membrane cytoplasmique (Lackner, et al., 2003), permettant ainsi à MinC d'inhiber la polymérisation de FtsZ tout le long de la cellule. L'hydrolyse de l'ATP par MinD provoque la dissociation du dimère et donc de son interaction avec MinC.

La protéine MinE semble, elle, réguler cette inhibition en empêchant MinC d'agir au milieu de la cellule (Hu and Lutkenhaus, 2003; King, et al., 1999). Ainsi, en l'absence de MinE, MinC inhibe la polymérisation de FtsZ tout le long de la cellule et la cellule filamente. MinE interagit physiquement avec MinD mais ne semble pas interagir avec MinC (YTH) (Huang, et al., 1996). En fait, MinE fonctionnerait en inhibant ou en déstabilisant l'association MinC/MinD. En effet, l'expression de MinE réduit fortement l'interaction MinC-MinD (YTH) (Huang, et al., 1996). Par ailleurs, *in vitro*, MinE stimule l'activité ATPase de MinD provoquant la dissociation du dimère de MinD et donc du complexe MinC-MinD. De la même manière, MinE est capable de dissocier MinD de vésicules lipidiques *in vitro* (Lackner, et al., 2003).

La construction de fusions des protéines Min à la GFP (Green Fluorescent Protein) a permis de visualiser l'extraordinaire mouvement oscillatoire des trois protéines et de comprendre réellement le fonctionnement de ce système (Fu, et al., 2001; Hu and Lutkenhaus, 1999; Hu and Lutkenhaus, 2001; Raskin and de Boer, 1997; Raskin and de Boer, 1999). Les protéines de fusion GFP-MinC, GFP-MinD et MinE-GFP oscillent, au niveau de la membrane, d'un pôle à l'autre avec une périodicité de 20 s. L'oscillation de MinD dépend de la présence de MinE et inversement. MinC n'exerce aucune influence sur le mouvement de ces deux protéines et semble se « contenter » d'être recrutée à la membrane par MinD. Ainsi, MinE forme un « anneau » dont l'oscillation d'un pôle à l'autre de la cellule permet la stimulation de l'activité ATPase de MinD et donc la dissociation du complexe MinCD. Celui-ci est alors relargué dans la cytoplasme ; MinD se lie à nouveau à l'ATP et relocalise MinC à la membrane mais cette fois-ci au pôle opposé (Lutkenhaus, 2007b). On conçoit intuitivement que du fait de l'oscillation du complexe inhibiteur MinCD, la concentration moyenne à un instant *t* de ce dernier est moindre au milieu de la cellule permettant à cet endroit la formation d'un anneau stable de FtsZ (Lutkenhaus, 2002; Margolin, 2001; Meinhardt and de Boer, 2001). La logique moléculaire du système Min chez *E. coli* est schématisée dans la Figure 6.

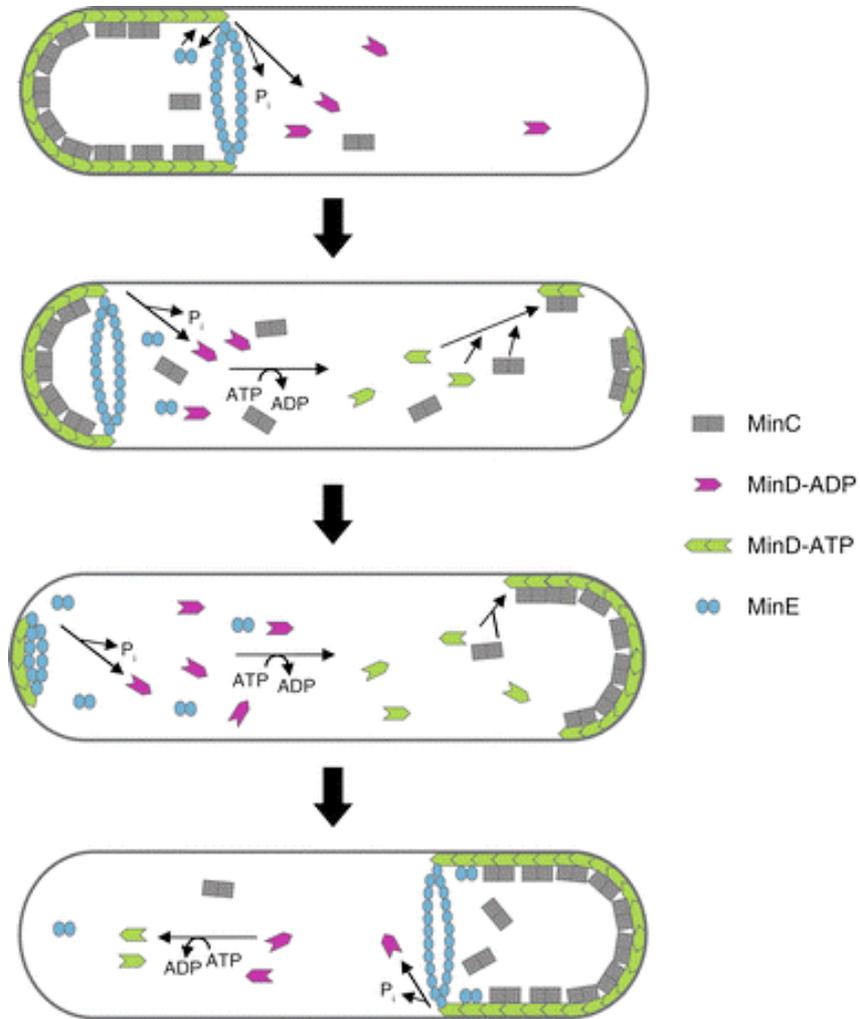


Figure 6 : Représentation du fonctionnement du système Min chez *E. coli*
(Lutkenhaus, 2007b)

A.1.2.2. Chez *B. subtilis*

L'analyse des nombreux génomes bactériens, dont la séquence est disponible à ce jour, révèle que les protéines Min y sont inégalement représentées. Des homologues du gène *minD* sont présents dans la grande majorité de ces génomes. En revanche, *minC* et surtout *minE* sont beaucoup plus rares. Nous allons voir que chez *B. subtilis*, la stratégie mise en place est relativement différente.

Par une approche génétique de complémentation fonctionnelle de mutants de *B. subtilis* présentant un phénotype «minicellules» plusieurs laboratoires ont cloné indépendamment deux loci baptisés *divIVA* et *divIVB*. Le locus *divIVB* est un opéron dicistronique codant pour deux polypeptides homologues à MinC et MinD (Levin, et al., 1992) qui, comme eux, interagissent physiquement (YTH) et localisent aux pôles des cellules en division (Marston, et al., 1998). La délétion du gène *minC* et/ou du gène *minD* conduit à un phénotype «minicellules» (Edwards and Errington, 1997) ; suggérant que comme chez *E. coli*, MinC et MinD contrôlent la polymérisation de FtsZ. Néanmoins, il a été montré que les protéines MinC et MinD de *B. subtilis* présentaient également une localisation septale en fin de cycle de division.

Le locus *divIVA* est monocistronique (Levin, et al., 1992) et sa délétion entraîne une forte filamentation de la cellule. DivIVA semble, de la même manière que MinE, réguler la distribution spatiale du complexe MinCD puisque la localisation de MinD dépendant de DivIVA (Edwards and Errington, 1997; Hamoen and Errington, 2003; Karoui and Errington, 2001; Marston and Errington, 1999; Marston, et al., 1998). DivIVA n'est pas présent chez *E. coli* et pourrait, par conséquent, être l'homologue fonctionnel de MinE. De plus, DivIVA présente la même localisation que MinC et MinD (aux pôles et au septum en fin de cycle) Cependant, contrairement à leurs homologues chez *E. coli*, aucun mouvement oscillatoire n'a été observé pour MinD et DivIVA et aucunes données ne prouvent qu'elles interagissent (Errington, et al., 2003a).

Récemment, un nouvel acteur de ce système a été identifié ; MinJ. MinJ interagit physiquement (test double hybride bactérien – BACTH) avec DivIVA et MinCD et pourrait ainsi contrôler l'interaction de ces facteurs entre eux (Bramkamp, et al., 2008; Patrick and Kearns, 2008). Comme celle de DivIVA, la délétion de MinJ conduit à une filamentation des

cellules (Bramkamp, et al., 2008; Patrick and Kearns, 2008). MinJ se localise à la fois aux pôles de la cellule et au septum tout comme les protéines DivIVA et MinCD

En fait, l'action du complexe MinCD semble se faire sur l'inhibition du recrutement des partenaires de FtsZ et donc sur la maturation de l'anneau Z plutôt que sur la polymérisation de FtsZ. En effet, chez les mutant $\Delta minJ$ et $\Delta divIVA$, l'arrêt de la division a lieu après la formation de l'anneau Z (Bramkamp, et al., 2008; Patrick and Kearns, 2008). De plus, une étude montre que MinC présente deux activités différentes affectant l'anneau Z (Dajkovic, et al., 2008; Hu and Lutkenhaus, 2000; Shiomi and Margolin, 2007).

Ainsi, en début de cycle de division, le complexe MinCD prévient la formation d'anneau Z au niveau des pôles de la cellule. Une fois le complexe de division assemblé et actif au milieu de la cellule, les acteurs du système Min sont recrutés au septum afin de prévenir toute nouvelle activité immédiate du complexe de septation (Bramkamp, et al., 2008; Patrick and Kearns, 2008). Le fonctionnement du système Min chez *B. subtilis* est schématisé dans la Figure 7.

Il est important de noter que MinJ est présente chez les bactéries gram positives cylindriques (*Clostridium*, *Listeria*, *Lactobacillus*) mais absente chez les bactéries gram positives sphériques (*Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Lactococcus*) (Bramkamp, et al., 2008; Patrick and Kearns, 2008). Ce système ne semble donc pas conservé d'une espèce à l'autre. Par ailleurs, de nombreux auteurs ont montré que chez les bactéries du genre *Streptococcus* et d'autres organismes, la protéine DivIVA semblait plutôt être impliquée dans de nombreux processus comme la ségrégation des chromosomes; la maturation du complexe de cytokinèse; la formation et la maturation des pôles de la cellule mais également dans la synthèse du peptidoglycane. Ainsi, il a été proposé que DivIVA est un facteur cytosquelettique ayant de nombreux partenaires impliqués dans diverses fonctions, expliquant ainsi que cette protéine intervienne dans autant de processus (Vicente and Garcia-Ovalle, 2007). Le fait que la protéine soit capable de former des oligomères va d'ailleurs dans le sens que DivIVA est un composant du cytosquelette bactérien (Rigden, et al., 2008).

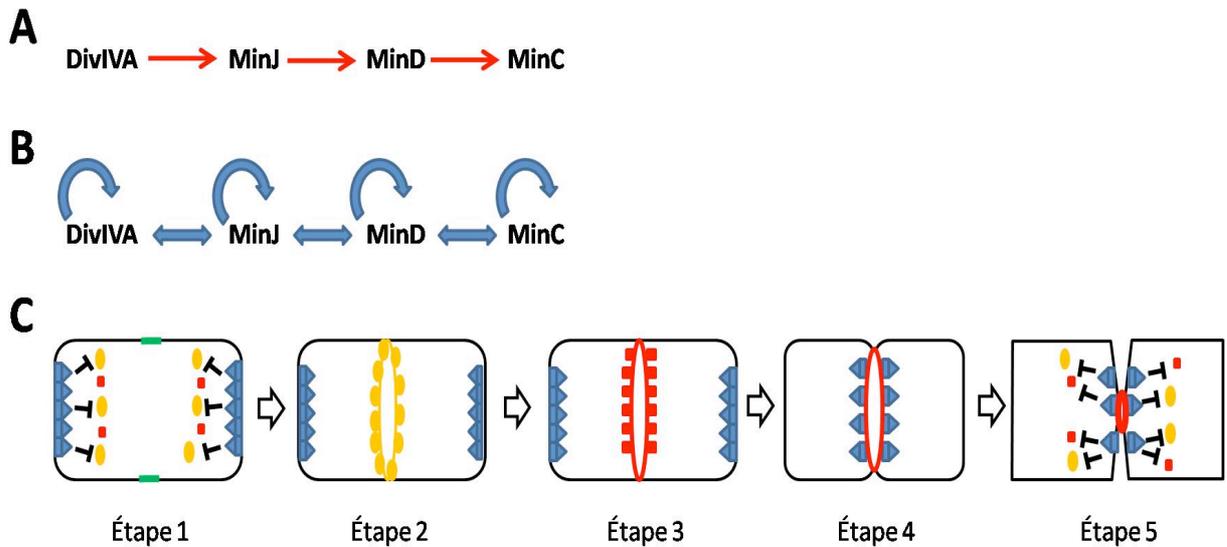


Figure 7 : Modèle de fonctionnement du système Min chez *B. subtilis*

(A) interdépendance de localisation des protéines représentées par des flèches rouges. DivIVA ne nécessite aucune protéine pour sa localisation tandis que MinC dépend de toutes les protéines pour localiser.

(B) Interactions (représentées par des flèches bleues) entre les protéines détectées par un système double hybride bactérien

(C) Modèle d'action du système Min chez *B. subtilis*. Le complexe MinCD est représenté par des triangles bleus, FtsZ est représenté par des sphères jaunes, les partenaires de FtsZ permettant la maturation de l'anneau Z sont représentés par des carrés rouges, l'anneau Z est représenté en jaune puis en rouge lorsqu'il devient actif. DivIVA et MinJ ne sont pas montrés sur le schéma.

Étape 1 : l'anneau Z ne peut pas se former aux pôles de la cellule du fait de l'action du complexe MinCD (dont la localisation dépend de MinJ et DivIVA). Étape 2 : l'anneau Z peut se développer au milieu de la cellule. Étape 3 : recrutement des protéines du complexe de cytokinèse permettant l'activation de l'anneau Z. Étape 4 : début du processus de division et recrutement du complexe MinCD au septum par DivIVA et MinJ. Étape 5 ; La constriction provoque le désassemblage du complexe de cytokinèse et MinCD empêche alors toute activité annexes des protéines désassemblées. (Bramkamp, et al., 2008; Patrick and Kearns, 2008).

A.2. L'anneau Z : la charpente et le moteur du complexe de cytokinèse

Un des événements clé de la cytokinèse bactérienne est la formation d'un anneau stable de polymères de la protéine FtsZ (**l'anneau Z**) au niveau du site futur de division (au milieu de la cellule mère). L'anneau Z est essentiellement formé de polymères de FtsZ mais il comprend également de nombreux facteurs impliqués dans la régulation de sa polymérisation (FtsA, ZipA, ZapA, SepF...). Cette structure annulaire est utilisée, entre autres, comme « charpente » pour l'assemblage du complexe multiprotéique nécessaire à la ségrégation des chromosomes, la synthèse du peptidoglycane septal et l'invagination de la membrane.

A.2.1 La protéine FtsZ, l'homologue structural de la tubuline

FtsZ est le composant majeur de la machinerie de cytokinèse pour plusieurs raisons. Il est présent et remarquablement conservé chez une grande majorité des eubactéries et un nombre non négligeable d'archaées et d'organites eucaryotes (Margolin, 2000). Il est au sommet de la hiérarchie d'assemblage de la machinerie cytokinétique. Ainsi, FtsZ est nécessaire à la localisation de l'ensemble des protéines du complexe de cytokinèse (Errington, et al., 2003a). Certaines mutations du gène *ftsZ* qui altèrent la forme de l'anneau Z (formation de structure en hélice par exemple), ont un effet similaire sur la morphologie globale de la bactérie (morphologie en spirale).

A.2.1.1. Caractéristiques générales

Le gène *ftsZ* (pour filamentation thermosensible Z) a été isolé chez *E. coli* par complémentation fonctionnelle d'un mutant thermosensible qui, à température non permissive, forment des filaments (pouvant atteindre la taille spectaculaire de 40 µm soit 20 fois la taille normale d'une cellule sauvage) (Lutkenhaus, et al., 1980). A l'exception de *Streptomyces coelicolor* (McCormick, et al., 1994), *ftsZ* est essentiel à la viabilité de toutes les bactéries et notamment des cyanobactéries comme démontré au laboratoire (Mazouni, et al., 2004). FtsZ est remarquablement conservé dans la quasi-totalité des génomes bactériens séquencés entièrement à ce jour. Une des exceptions est la famille des Chlamydiaceae qui ne

possède pas d'homologue de la protéine FtsZ (Vaughan, et al., 2004). Toutefois, ces bactéries sont des parasites obligatoires qui pourraient utiliser des composants de la cellule hôte pour leur division. Le gène *ftsZ* est également absent de certaines bactéries non parasitaires comme *Ureaplasma urealyticum* (Glockner, et al., 2003) et *Pirellula sp.* (Glass, et al., 2000). La cytokinèse de ces espèces demeure inconnue à ce jour.

FtsZ est une protéine acide (point isoélectrique, pI= 4-5) d'environ 40 kD, présentant une activité GTPase.

A.2.1.2. Structure et polymérisation

En 1998, la résolution simultanée des structures tridimensionnelles de FtsZ de l'archaeobactérie *Methanococcus jannashii* (Lowe, 1998) et de l'hétérodimère de tubuline α/β du cerveau de bovin (Nogales, et al., 1998) a montré d'évidentes similarités de structure entre ces deux facteurs (Figure 8). Ces deux protéines possèdent deux domaines globulaires : un domaine N-terminal de fixation du GTP séparé d'un domaine C-terminal par une hélice centrale.

La tubuline est une protéine essentielle à la survie de tous les eucaryotes, impliquée dans de multiples processus biologiques, dont la ségrégation des chromosomes durant la mitose ou la mobilité mitochondriale (Errington, et al., 2003b). Elle polymérise *in vitro* en présence stricte de GTP pour former des protofilaments dans lesquels les monomères α et β , qui partagent 50% d'acides aminés identiques, s'associent de manière latérale (Errington, et al., 2003a). Tout comme la tubuline, *in vitro* et en présence stricte de GTP, FtsZ s'assemble sous forme de protofilaments qui consistent en des polymères linéaires contenant des sous-unités de FtsZ s'associant latéralement les uns aux autres (Figure 8 et 9) (Bramhill, 1997; Erickson, et al., 1996; Lowe and Amos, 1999; Lowe and Amos, 2000; Mukherjee and Lutkenhaus, 1994). L'hydrolyse du GTP se fait de manière concomitante avec la polymérisation, mais le phosphate hydrolysé n'est pas relargué immédiatement. La configuration de FtsZ est différente selon que du GTP ou du GDP est fixé à la protéine. Ainsi, les polymères de FtsZ peuvent être stabilisés par la présence de GTP- γ -S non hydrolysable et rapidement dépolymérisés si l'on ajoute un large excès de GDP (Mukherjee, et al., 2001; Scheffers, et al., 2000).

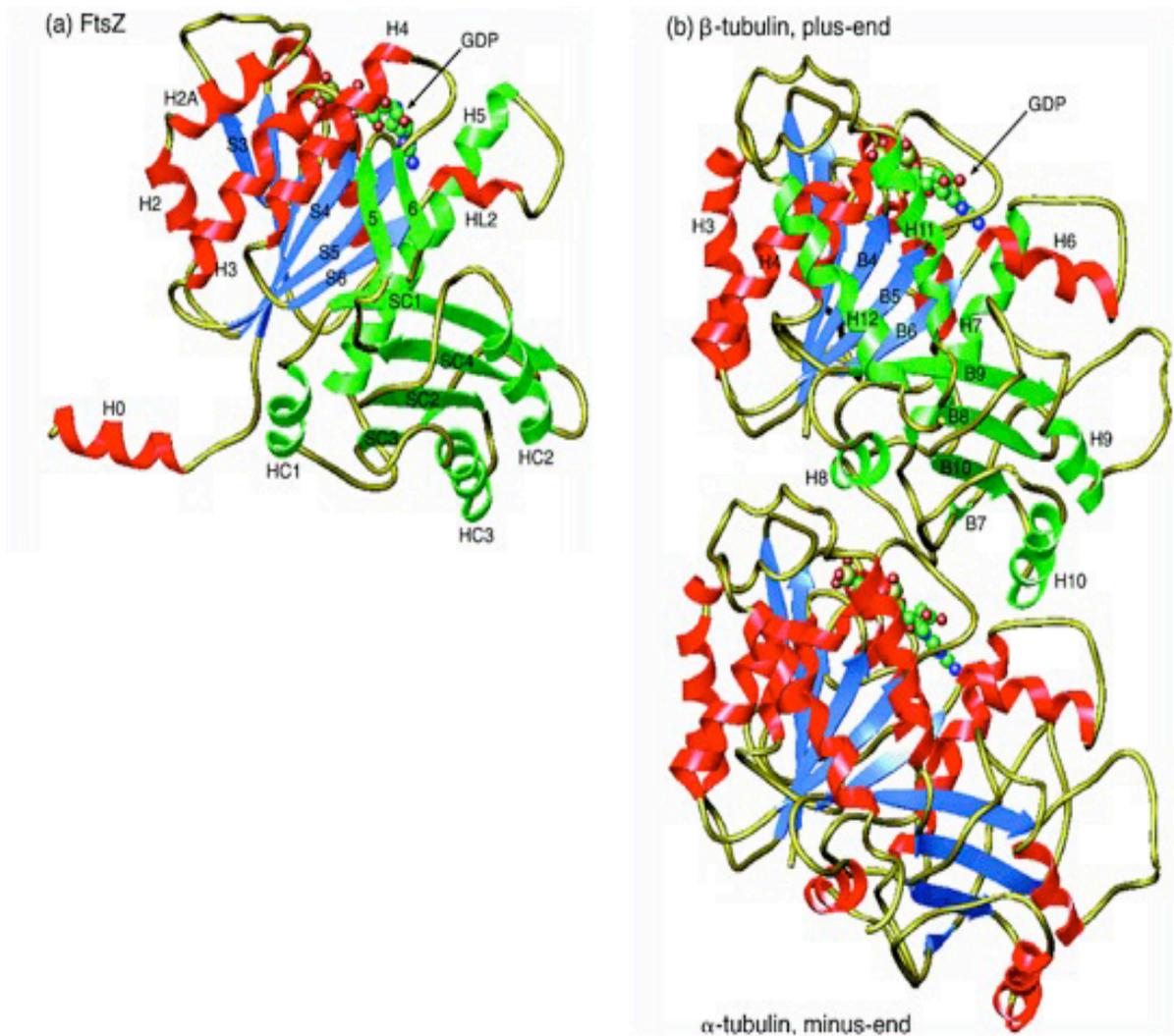


Figure 8 : Structure tridimensionnelle de la protéine FtsZ et de l'hétérodimère de tubuline α/β

Au niveau du domaine N-terminale : les hélices sont représentées en rouge, les feuilletts β en bleu, les boucles en jaune, le GDP en vert. Les domaines C-terminaux de la tubuline β et de FtsZ sont représentés en vert. La surface du domaine de liaison au GTP est désignée comme l'extrémité positive alors que la surface de liaison du domaine C-terminal est désignée comme l'extrémité négative. (Erickson, 1998).

De récentes avancées biochimiques et la résolution de la structure cristallographique des polymères de FtsZ ont montré des homologies de structures avec les protofilaments de la tubuline (Lowe and Amos, 1999; Oliva, et al., 2004). Les polymères de FtsZ et de tubuline s'assemblent par interaction entre l'extrémité positive d'un monomère et l'extrémité négative du monomère suivant ; conduisant ainsi à une structure linéaire. L'interaction implique l'insertion d'une boucle, nommée T7, du monomère N dans la poche de fixation du GTP du monomère N+1. C'est cette association de la poche de fixation du GTP et de la boucle T7 qui forme le site actif et permet l'hydrolyse du GTP (Figure 9) (de Pereda, et al., 1996; Erickson, 1998; Lowe, 1998; Lowe and Amos, 1998).

Ainsi, alors que FtsZ et la tubuline partage peu d'homologie de séquence (< 20% d'identité de séquence) ; les acides aminés impliqués dans la fixation du GTP et les mécanismes de formation du site actif sont, eux, très conservés entre les deux protéines.

Il a été mis en évidence, dans les cellules eucaryotes, que les microtubules de tubuline, sont des cylindres de 25 nm de diamètre composés de 13 protofilaments parallèles (Errington, et al., 2003a). En revanche, l'agencement des protofilaments composant l'anneau de FtsZ chez les bactéries reste très discutée (Huecas, et al., 2008). En fait, les protofilaments de FtsZ composant l'anneau Z, n'ont jamais pu être observés *in vivo*. Ceci peut être dû au fait que l'anneau Z est une structure trop petite et/ou masquée par son environnement cytoplasmique dense.

Toutefois, il a été observé que les protofilaments de FtsZ sont capables de s'associer latéralement *in vitro*, formant ainsi diverses structures de niveaux supérieurs (structures en feuille, en ruban, en tube). Ces associations latérales peuvent être induites entre autres par le pH ou des cations divalents (Ca^{2+} , Mg^{2+}) (Harry, et al., 2006).

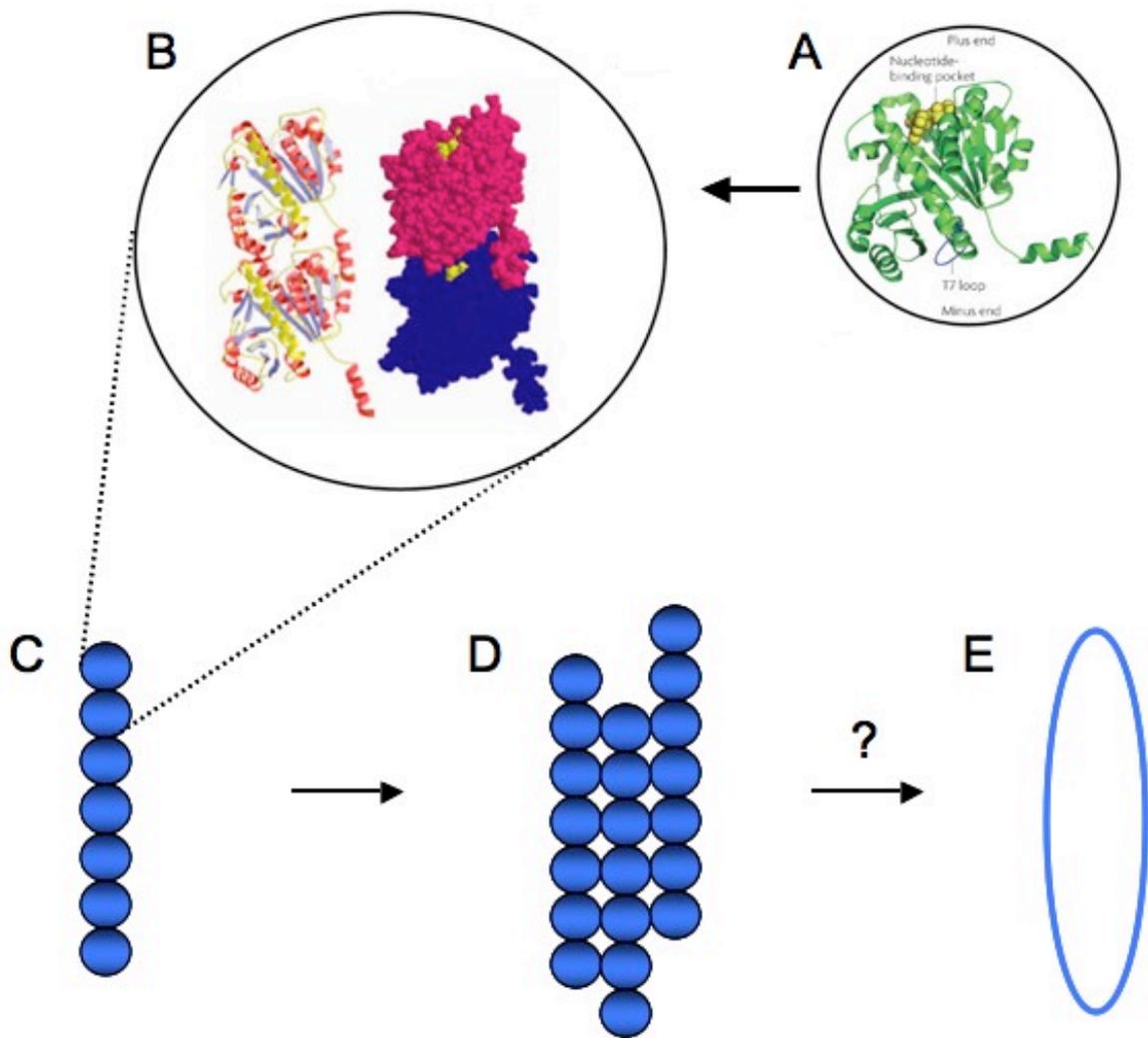


Figure 9 : Représentation des étapes de polymérisation de FtsZ

A- Structure d'un monomère (en vert) fixant le GTP (en jaune). B – Structure d'un dimère (un monomère est coloré en rouge, l'autre en bleu), le GTP est représenté en jaune. C- Représentation d'un filament de FtsZ, constitué de monomères de FtsZ s'associant latéralement les uns aux autres. D – assemblage des filaments en Protofilaments par des interactions latérales. E – l'organisation des protofilaments de FtsZ dans l'anneau Z n'est pas connue. (Lock and Harry, 2008).

L'anneau Z (tout comme les microtubules eucaryotes) n'est pas une structure figée mais, au contraire, une structure dynamique (Stricker, et al., 2002). Les auteurs de ce travail ont analysé le comportement d'une souche produisant la protéine de fusion FtsZ-Gfp (ainsi que FtsZ sauvage) par la technique du FRAP (« Fluorescence Recovery After Photobleaching »). Cette méthode consiste à abolir la fluorescence émise par la GFP à un temps donné et puis de suivre en temps réel sa réapparition. Si l'anneau Z est de nature dynamique, c'est à dire qu'il y a échange entre celui-ci et le « pool » cytoplasmique de monomères, alors on peut s'attendre à ce qu'il émette de la fluorescence à nouveau: c'est exactement ce que les auteurs ont observé. Ainsi il a été estimé que l'anneau Z a une demi-vie de l'ordre de la trentaine de secondes (Stricker, et al., 2002) ce qui indique que les polymères constituant l'anneau Z sont en rapide et continuel cycle de polymérisation / dépolymérisation.

A.2.1.3. Le processus de constriction

Les mécanismes moléculaires de la constriction demeurent peu connus. Tous les modèles proposés font intervenir un ancrage de l'anneau Z à la membrane cytoplasmique.

- (Errington, et al., 2003a). A la manière de la myosine, de courts filaments de FtsZ glisseraient les uns sur les autres sous l'action d'un moteur protéique, entraînant une diminution du diamètre de l'anneau Z. Le moteur moléculaire invoqué dans ce modèle n'a, cependant, jamais été identifié.
- (Lu, et al., 2000). La constriction serait le résultat d'une courbure des filaments de FtsZ due à un changement de conformation de FtsZ lors de l'hydrolyse du GTP en GDP. En effet, il a été observé que les protofilaments de FtsZ formés en présence de GTP sont droits alors que ceux formés en présence de GDP sont courbés
- (Rivas, et al., 2000). Les filaments de FtsZ seraient progressivement dépolymérisés au site d'attachement à la membrane. Ce modèle est soutenu par les deux observations suivantes : (i) la surproduction de FtsZ inhibe la constriction de l'anneau et (ii) les protofilaments formés en présence de GDP sont plus labiles.

- (Li, et al., 2007). Ce modèle est une combinaison des deux précédents; il propose que FtsZ génère, lui même, la force de constriction de la membrane selon un cycle de pincements répétés de la membrane (Figure 10).

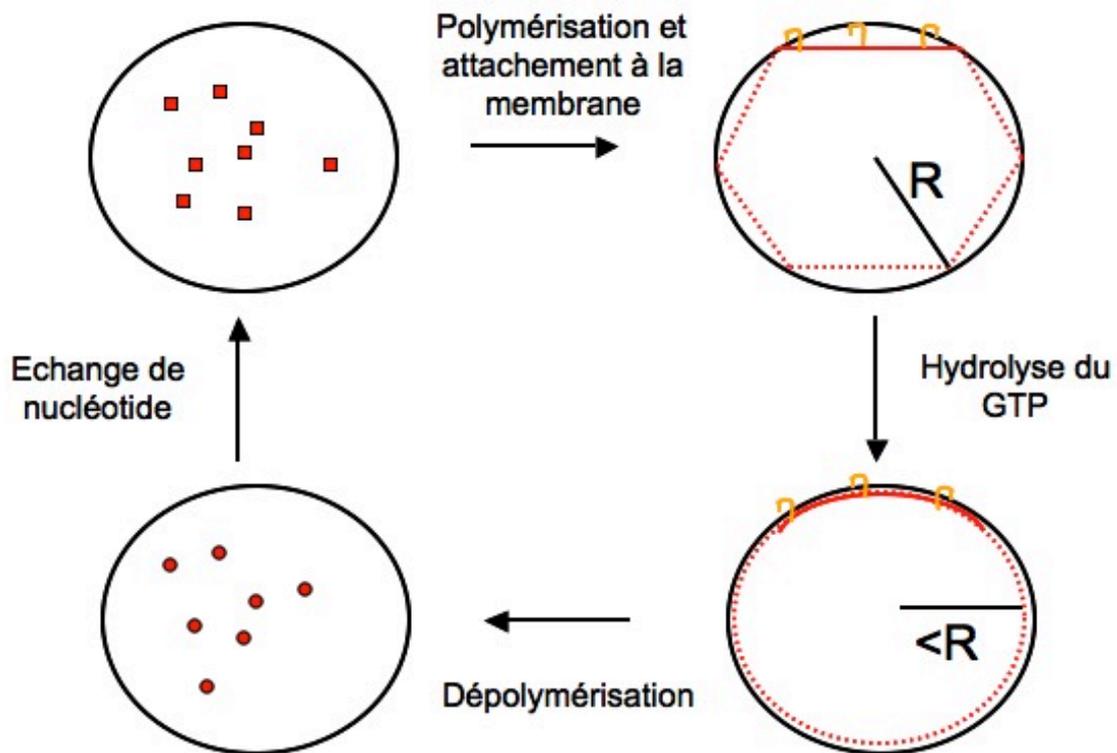


Figure 10 : Représentation du modèle de constriction par pincement répété des polymères de FtsZ

Les molécules cytoplasmiques de FtsZ liées au GTP (carrés rouge) polymérisent sous forme de filaments droits (ligne rouge) et se lient à la membrane plasmique (rond noir) par l'intermédiaire d'ancres moléculaires (crochet orange). L'hydrolyse du GTP conduit à un changement de conformation des filaments de FtsZ qui se courbent, entraînant localement un pincement interne de la membrane. Les molécules de FtsZ liées au GDP se dépolymérisent (rond rouge) et échangent ensuite leur nucléotides afin de recommencer le cycle. Les petites constriction résultantes de chaque cycle seraient maintenues par la néo-synthèse de peptidoglycane. (Li, et al., 2007).

Ce modèle est remis en question par le fait que le GDP, issue de l'hydrolyse du GTP, est rapidement échangé avec du GTP au niveau des monomères de FtsZ. Par conséquent les protofilaments sont essentiellement constitués de protéines associées au GTP et ne pourraient pas emmagasiner suffisamment d'énergie pour réaliser l'invagination septale (Harry, et al., 2006). De plus, chez les mutants de FtsZ dont l'activité GTPase est déficiente, la constriction de l'anneau Z a toujours lieu, bien que le recyclage des sous unités de FtsZ soit altéré (Anderson, et al., 2004).

D'autres auteurs ont proposé que la synthèse du peptidoglycane septal elle même, provoquerait l'invagination de la paroi cellulaire (Harry, et al., 2006). Cependant, aucune expérience n'est venue étayer cette hypothèse de travail. Ainsi le processus moléculaire de constriction demeure inexpliqué.

A.2.2 Les partenaires cytoplasmiques de la protéine FtsZ

A.2.2.1 FtsA est la première protéine recrutée par FtsZ

Après FtsZ, FtsA est la deuxième protéine cytokinétique la mieux conservée chez les bactéries (Harry, et al., 2006). Le gène *ftsA* est essentiel à la viabilité cellulaire chez *E. coli* et les mutants thermosensibles de *ftsA* filamentent fortement à température non permissive (Beall, et al., 1988; Beall and Lutkenhaus, 1992; Donachie, et al., 1979; Lutkenhaus and Donachie, 1979; Lutkenhaus, et al., 1980). Chez *B. subtilis*, *ftsA* n'est pas essentiel à la croissance et sa délétion conduit à une filamentation des cellules (Beall and Lutkenhaus, 1992).

La séquence primaire de la protéine FtsA indique qu'elle appartient à la superfamille des ATPases qui comprend l'actine, les hémokinasés et les protéines de chocs thermiques de la famille Hsp70 (Figure 11) (Bork, et al., 1992). La structure cristallographique de la protéine FtsA de *Thermotoga maritima* (van den Ent and Lowe, 2000) ressemble à celle de l'actine ; chacune possède deux domaines protéiques séparés par un domaine intermédiaire possédant une poche de fixation des nucléotides (Figure 12). Cependant, la signification de cette similarité de structure n'est pas claire. FtsA ne semble pas être un composant majeur des

structures cytosquelettiques bactériennes et sa délétion n'entraîne pas d'aberrations morphologiques comme des cellules en spirales (comme observé avec certains mutants de FtsZ). En outre, le rôle de l'activité ATPase de FtsA n'est pas connu.

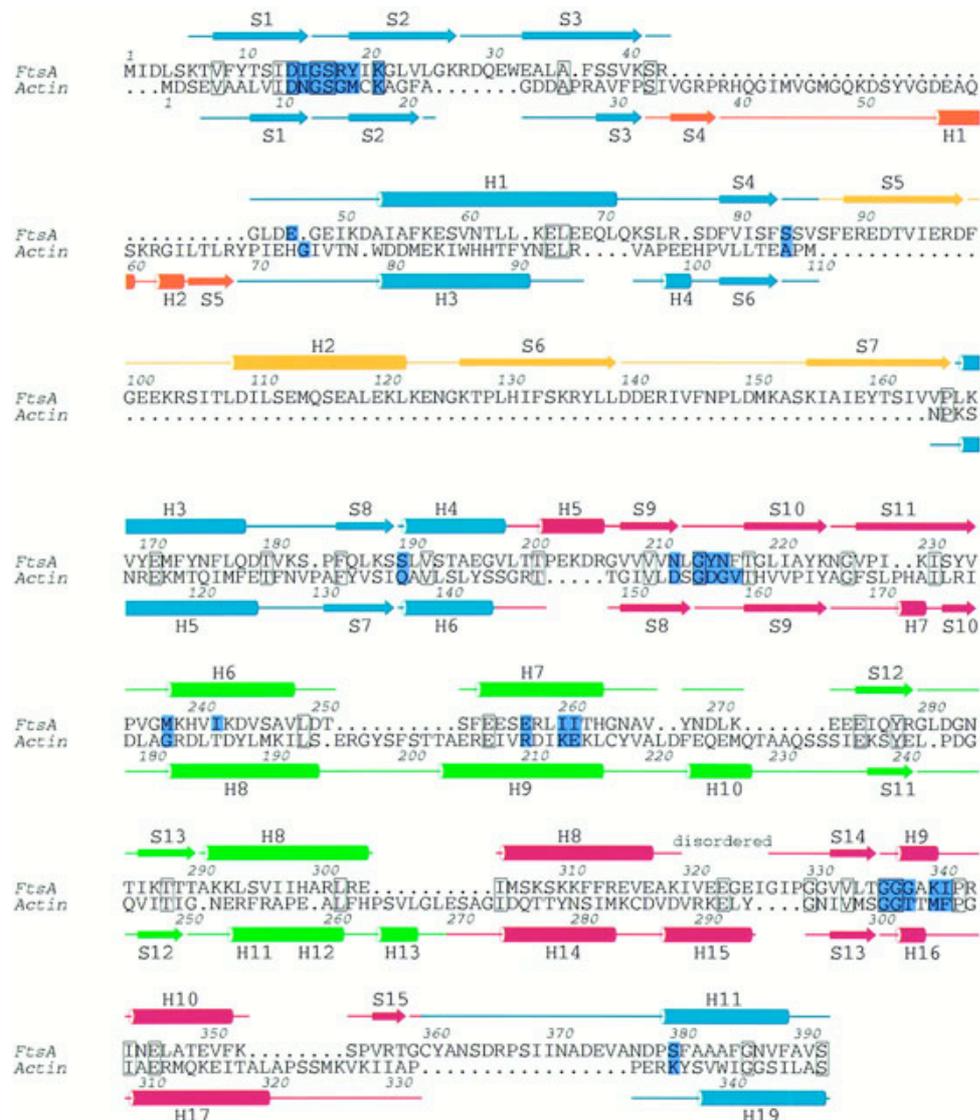


Figure 11 : Alignement des structures secondaires de la protéine FtsA et de l'actine des eucaryotes

Les couleurs des éléments de structure secondaire sont les mêmes que celles des domaines indiqués dans la structure tridimensionnelle (Figure 12) (van den Ent and Lowe, 2000).

La protéine FtsA fusionnée à la Gfp localise au septum dans les deux bactéries de manière dépendante de FtsZ. En effet, cette localisation est abolie chez des mutants incapables de former l'anneau Z (Addinall, et al., 1996; Feucht, et al., 2001). Il a été montré qu'il n'y avait pas de différence temporelle entre la localisation de FtsZ et FtsA au site de division (Den Blaauwen, et al., 1999; Rueda, et al., 2003) et que chez *B.subtilis*, FtsZ et FtsA interagissent physiquement avant la formation de l'anneau Z, suggérant, chez cet organisme, que l'anneau Z serait un complexe FtsA-FtsZ (Jensen, et al., 2005).

Des études d'interaction protéine-protéine avec le système levure de double hybride (YTH) montrent que cette interaction est dépendante des 70 derniers aa de FtsZ (Wang, et al., 1997). Deux aa dans la partie C-terminale de la protéine FtsZ de *E. coli*, la leucine 372 et la Proline 375 sont critiques pour cette interaction (Erickson, 2001). L'extrémité C-terminale de FtsZ est conservé chez la plupart des orthologues bactérien de cette protéine et semble être le site d'interaction de nombreux facteurs (Din, et al., 1998; Ma and Margolin, 1999; Wang, et al., 1997; Yan, et al., 2000).

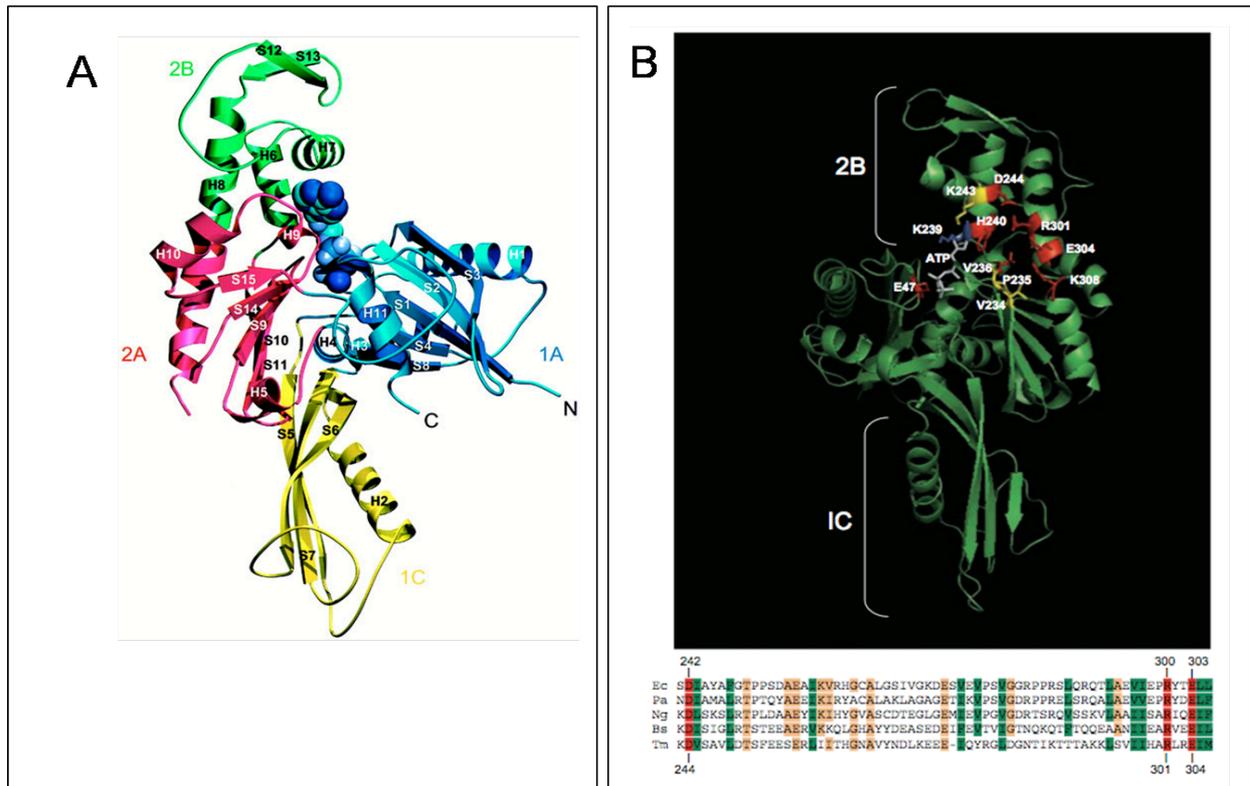


Figure 12 : Représentation tridimensionnelle de la protéine FtsA de *T. maritima*, et des acides aminés de FtsA d'*E. coli* importants pour l'interaction avec FtsZ

(A) La structure de FtsA de *T. maritima* comprend 4 domaines (1A, 1C, 2A et 2B) par homologie aux protéines de la famille de l'actine (van den Ent and Lowe, 2000).

(B) Les acides aminés altérés chez les mutants d'*E. coli* sont représentés sur la structure tridimensionnelle de la protéine FtsA de *T. maritima*. Les acides aminés essentiels pour la localisation de FtsA à l'anneau septal sont colorés en rouge. Il s'agit, en indiquant en premier la nature et la position dans le FtsA_{E.coli}-puis dans le FtsA_{T.maritima},: K48 – E-47; Y234 – V236; V238 – H240 ; D242 – D244; R300 – R301; E303 – E304; L307 – K308. Les acides aminés ne provoquant qu'une perte partielle de localisation sont colorés en jaune: I232 – V234; P233 – P235; S241 – K243. Enfin, ceux qui n'ont pas d'effet sur la localisation sont colorés en bleu: N237 – K239.

L'alignement des séquences de FtsA issus de divers organismes (Ec = *E. coli*; Pa = *Pseudomonas aeruginosa*; Ng = *Neisseria gonorrhoeae*; Bs = *B. subtilis*; Tm = *T. maritima*) montre la région de FtsA contenant les aa chargés (panneau B). La position des aa dans la protéine de *T. maritima* sont indiqués sous l'alignement tandis que ceux d'*E. coli* sont indiqués au dessus. (Pichoff and Lutkenhaus, 2007a).

Un des rôles possible pour FtsA serait de participer à la formation et à la stabilisation de l'anneau Z, ou à son ancrage à la membrane. En effet, bien que le profil d'hydrophobicité de FtsA indique qu'elle ne possède pas de fragment transmembranaire ; son domaine C-terminal s'agence en hélice amphiphile et pourrait lui permettre de s'enchasser dans la membrane (Figure 13). Enfin, chez *E. coli* et *B. subtilis*, FtsA semble nécessaire au recrutement d'autres composants du septosome. L'activité ATPase de FtsA pourrait lui permettre le recrutement de ces facteurs.

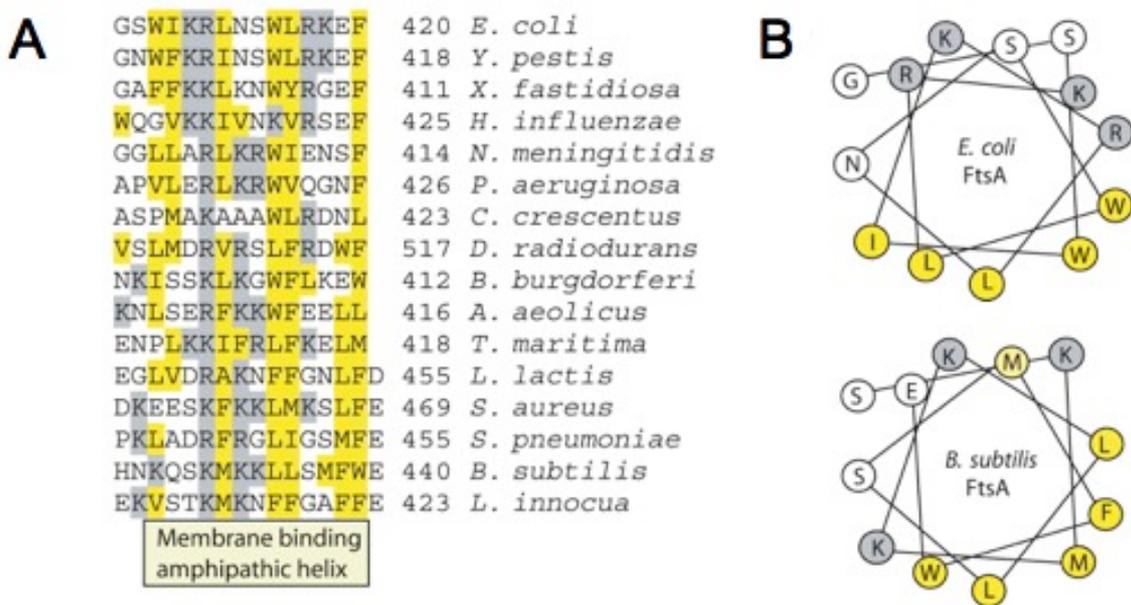


Figure 13 : La région C-terminale de FtsA contient un motif conservé qui a la capacité de former une hélice amphipathique

(A) Comparaison de la région C-terminale de FtsA de différentes bactéries comportant un motif conservé.

(B) Diagramme en roue de l'hélice formée par la partie C-terminale de FtsA d'*E.coli* et de *B.subtilis*. Le diagramme du motif de la protéine FtsA de *E. coli* ne comprend pas les deux derniers acides aminés car ils ne sont pas essentiels pour le bon fonctionnement de FtsA. Le diagramme du motif de la protéine FtsA de *B. subtilis* ne comporte pas les 4 premiers résidus car le caractère hydrophobe de l'hélice est décalé vers la fin du motif chez les bactéries gram positive.

Les acides aminés hydrophobes sont indiqués en jaunes et les basiques en gris (Pichoff and Lutkenhaus, 2005).

A.2.2.2. ZapA participe aux interactions latérales entre les protofilaments de FtsZ

La protéine ZapA (pour « Z-ring-associated protein A ») a été mise en évidence chez *B. subtilis* lors d'une recherche de facteurs dont la surproduction stimule la formation de l'anneau Z, en utilisant comme crible la capacité à compenser l'inhibition de la formation de l'anneau Z due à la surproduction de la protéine MinD (Gueiros-Filho and Losick, 2002).

La protéine ZapA interagit physiquement avec FtsZ et présente une localisation septale. Néanmoins, ZapA n'est pas essentielle à la formation du septum; elle est requise pour la formation d'un anneau Z correct et une division cellulaire normale (Gueiros-Filho and Losick, 2002). Des études, *in vitro*, ont montré que ZapA stimule la formation de structures de FtsZ de niveau supérieur (de la même manière que les cations bivalents) (I.A.2.1.2) (Gueiros-Filho and Losick, 2002). ZapA, qui interagit avec FtsZ sous la forme d'un dimère ou d'un tétramère formé de deux dimères « tête-bêche », fonctionnerait comme un pont moléculaire entre deux protofilaments de FtsZ (Figure 14) (Low, et al., 2004). Elle pourrait également influencer l'orientation prise par les protofilaments de FtsZ afin d'aboutir à la formation d'un anneau et non pas de spirales (Low, et al., 2004).

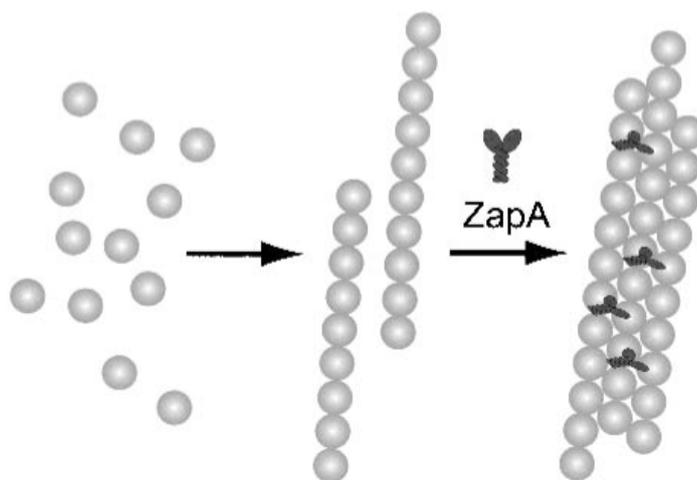


Figure 14 : Représentation d'un modèle de la fonction de la protéine ZapA lors de la formation de l'anneau de FtsZ

La figure représente l'assemblage des molécules de FtsZ (rond gris) en protofilaments puis sous forme de structures plus complexes. Le modèle propose que des dimères de ZapA (Y noir) aide à la liaison entre deux protofilaments et à la stabilisation de cette interaction (Gueiros-Filho and Losick, 2002).

Un homologue de la protéine ZapA a été identifié chez *E. coli* (ygfE) (Small, et al., 2007). Les auteurs ont montré que la protéine YgfE était un inhibiteur potentiel de l'activité GTPase de FtsZ et pourrait, par conséquent, stabiliser les polymères de FtsZ (I.A.2.1.2).

Récemment, un nouvel acteur de l'anneau Z a été mis en évidence : ZapB (pour « Z-ring-associated protein B ») qui, comme ZapA ou FtsA, semble capable de stimuler la polymérisation de FtsZ (Ebersbach, et al., 2008).

A.2.2.3. SepF favorise la polymérisation de FtsZ

Le gène *sepF* (codant pour la protéine **SepF** pour « septum forming ») fait partie chez *B. subtilis* et *Streptococcus pneumoniae* d'un groupe de gènes voisins comprenant *ylmE*, *ylmG*, *ylmH* et *divIVA*. En 2003, Fadda et ses collaborateurs ont montré que l'inactivation du gène *sepF* entraînait la formation de chaînes de cellules non séparées chez *S. pneumoniae* ainsi qu'une morphologie altérée (Fadda, et al., 2003).

La protéine SepF a été récemment caractérisée par deux équipes chez *B. subtilis* (Hamoen, et al., 2006; Ishikawa, et al., 2006). Ils ont montré qu'un double mutant $\Delta sepF \Delta ftsA$ n'est pas viable et que la surexpression du gène *sepF* complémente le phénotype $\Delta ftsA$ (Ishikawa, et al., 2006). Il semblerait donc que SepF et FtsA partagent une certaine partie de leur fonction.

Comme FtsA et ZapA, SepF interagit avec FtsZ et présente une localisation à l'anneau septal dépendante de FtsZ (Hamoen, et al., 2006; Ishikawa, et al., 2006). SepF participerait à la création de connexions latérales entre les polymères de FtsZ (comme ZapA). De plus, SepF pourrait réduire l'activité GTPase de FtsZ, augmentant ainsi la stabilité des polymères de FtsZ. SepF semble interagir avec la partie C-terminale de FtsZ puisque cette interaction est inhibée par l'ajout en excès d'un peptide correspondant aux 16 derniers acides aminés de FtsZ.

Enfin, toujours comme FtsA, SepF pourrait participer à l'ancrage de l'anneau Z à la membrane via une hélice amphiphile N-terminale (SMKDKLK – séquence *B. subtilis*) lui permettant de s'enchaîner dans la membrane plasmique ((Sapay, et al., 2006)).

A.2.2.4. ClpX inhibe la polymérisation de FtsZ

En 2005, Weart et collaborateurs ont caractérisé un nouveau partenaire de FtsZ chez *B. subtilis* ; la chaperone ClpX. La protéine ClpX est la sous-unité impliquée dans la reconnaissance du substrat de la protéase ClpXP (Flynn, et al., 2003). Elle fonctionne aussi indépendamment de ClpP, pour prévenir l'agrégation de protéines et remodeler des complexes protéiques (Flynn, et al., 2003). L'inactivation du gène *clpX* permet de restaurer une morphologie normale chez un mutant thermosensible de FtsZ et sa surexpression inhibe fortement la division cellulaire de *B. subtilis*. Cette action de ClpX est indépendante de son activité ATPase et de son partenaire ClpP, indiquant que l'activité protéase n'est pas impliquée dans ce processus. Enfin, *in vitro*, ClpX inhibe la polymérisation de FtsZ sans interférer avec le repliement de FtsZ ni son activité GTPase.

La protéine ClpX est bien conservée dans le monde bactérien et il a été montré qu'elle interagissait directement avec FtsZ chez *E. coli* (Flynn, et al., 2003). Il est donc possible que cette fonction ait été préservée au cours de l'évolution.

A.2.2.5. Sula bloque la polymérisation de FtsZ lors de l'activation du système S.O.S.

SulA, un composant du système S.O.S. chez *E. coli*, est produite en réponse aux dommages de l'ADN pour bloquer la division cellulaire, en inhibant l'assemblage de l'anneau Z (Bi and Lutkenhaus, 1993; Huang, et al., 1996) ; le temps nécessaire à la réparation des lésions de l'ADN. La reprise du cycle cellulaire normal est possible car SulA est rapidement dégradée par la protéase Lon (Mizusawa and Gottesman, 1983).

En solution, SulA existe sous la forme d'un dimère et chaque sous-unité contient un site d'interaction avec FtsZ, au niveau de sa boucle T7 (I.A.2.1.2, Figure 8), inhibant ainsi la polymérisation de FtsZ et la formation de son site actif (site de fixation au GTP) (Cordell, et al., 2003). Cette observation est en accord avec les données montrant que SulA inhibe à la fois la polymérisation et l'activité GTPase de FtsZ (Mukherjee and Lutkenhaus, 1998). SulA est une protéine peu conservée dans le monde bactérien. Chez *B. subtilis*, l'arrêt de la division cellulaire en réponse aux dommages de l'ADN, est accompli par la protéine YneA, dont la fonction est mal connue (Kawai, et al., 2003).

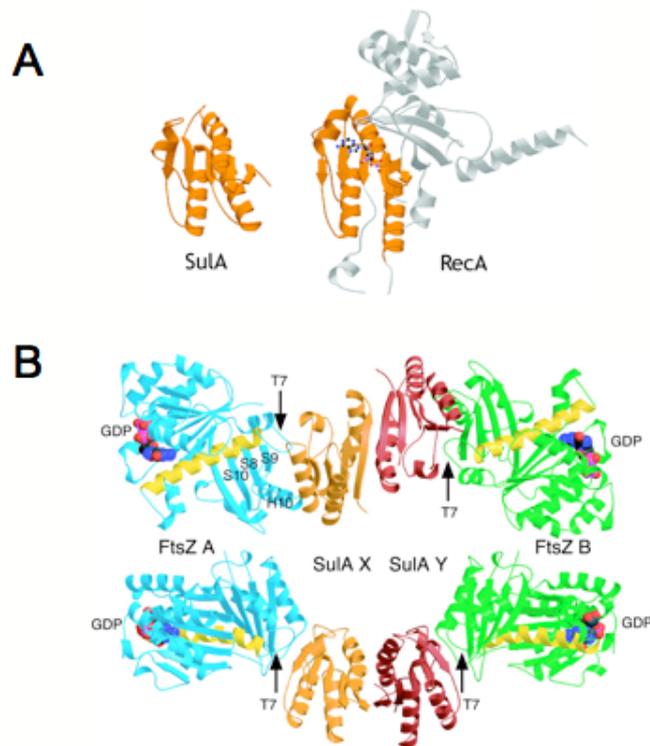


Figure 15 : Structure de la protéine Sula seule et en complexe avec FtsZ

(A) Structure cristallographique d'un monomère de Sula de *P. aeruginosa* et de sa similarité avec le domaine N-terminal de la protéine RecA de *E. coli*.

(B) Structure cristallographique du complexe SulA Δ 35 – FtsZ (cette forme de la protéine Sula permet une meilleure résolution de la structure). Le dimère de Sula (orange et rouge) est pris en « sandwich » entre deux monomères de FtsZ (vert et bleu) via l'interface T7. L'hélice jaune représente la frontière entre les domaines N et C terminaux de FtsZ. Les deux vues représentent une rotation de 90°. (Cordell, et al., 2003)

A.2.3 Les partenaires membranaires de FtsZ

Comme mentionné précédemment, les différents modèles proposés pour le fonctionnement de l'anneau Z nécessitent que celui-ci soit fortement lié à la membrane. De plus, cette association à la membrane est également nécessaire pour coordonner l'invagination membranaire avec la synthèse du peptidoglycane. Certaines protéines comme FtsA et SepF pourraient participer à cet ancrage du fait de leur enchâssement dans la membrane via une hélice amphiphile. Nous allons voir que FtsZ interagit également avec des protéines

membranaires qui pourraient être des facteurs majeurs de cet attachement de l'anneau Z à la membrane.

A.2.3.1. La protéine ZipA d'*E. coli*

ZipA (pour «Z interacting protein A») a été identifié chez *E. coli* après coimmunoprécipitation avec la protéine FtsZ (Hale and de Boer, 1997). Elle possède un domaine N-terminal membranaire, et un domaine C-terminal cytoplasmique constitué de deux modules distincts reliés par un peptide flexible riche en proline et glycine (Ohashi, et al., 2002). Le gène *zipA* est essentiel chez *E. coli*, (RayChaudhuri, 1999) et ZipA se localise au septum de manière dépendante de FtsZ, mais indépendamment de FtsA.

La surexpression de *zipA* chez *E. coli* conduit à l'inhibition de la division cellulaire (Hale and de Boer, 1997; Hale and de Boer, 1999; Liu, et al., 1999), et à la suppression du phénotype thermosensible de l'allèle *ftsZ84(ts)* en stabilisant l'anneau Z (RayChaudhuri, 1999). *In vitro*, les polymères de FtsZ formés en présence d'un excès de protéines ZipA présentent des connexions plus importantes (Hale, et al., 2000; RayChaudhuri, 1999) qui sont similaires à ceux formés en présence de cations bivalents (I.A.2.1.2) (Mukherjee and Lutkenhaus, 1999). Il est intéressant de noter que l'anneau de FtsZ se forme toujours chez les simples mutants de délétion $\Delta ftsA$ et $\Delta zipA$ mais pas chez le double mutant $\Delta ftsA \Delta zipA$ (Pichoff and Lutkenhaus, 2002); indiquant une possible redondance de fonction pour ces deux protéines.

Le domaine C-terminal de ZipA interagit avec FtsZ, au niveau de son domaine C-terminal (comme FtsA et SepF) (Hale, et al., 2000; Liu, et al., 1999; Mosyak, et al., 2000; Moy, et al., 2000).

La structure cristallographique de l'hétérodimère constitué par le domaine C-terminal de ZipA et les 17 aa C-terminaux de FtsZ révèle une organisation de type β - α - β formant une cavité hydrophobe à laquelle se lie le peptide de 17 aa de FtsZ (Mosyak, et al., 2000; Moy, et al., 2000). Cette interaction implique principalement des liaisons hydrophobes, et deux ponts hydrogènes (Mosyak, et al., 2000). De manière intéressante, la proline conservée du domaine C-terminal de FtsZ, essentielle à l'association avec FtsA, (I.A.2.2.1) ne semble pas impliquée

dans celle avec ZipA (Mosyak, et al., 2000). En revanche, les aa D373, I374, F377, L378 de FtsZ participent à cette interaction (Mosyak, et al., 2000) (Haney, et al., 2001).

Le fait que ZipA semble 10 à 100 fois moins abondante que FtsZ *in vivo* (Hale and de Boer, 1997) et que seulement 30% des protéines ZipA se localisent au septum au cours de la division (Stricker, et al., 2002), suggère que ZipA peut interagir simultanément avec l'anneau Z et les monomères cytoplasmiques de FtsZ (Errington, et al., 2003a). Par ailleurs, ZipA montre un comportement dynamique similaire à celui de FtsZ avec un échange constant de protéines entre le « pool » membranaire et le « pool » annulaire (Stricker, et al., 2002). Il est donc envisagé que cet échange dynamique reflète le mouvement d'un complexe FtsZ-ZipA.

A.2.3.2. La protéine EzrA de *B. subtilis*

La protéine EzrA (pour « extra Z rings A »), conservées chez diverses bactéries Gram-négative, a été identifiée comme un régulateur négatif de la polymérisation de FtsZ (Levin, et al., 1999). Les mutants $\Delta e z r A$ sont viables et présentent des anneaux Z surnuméraires. Ils demeurent capables de former un anneau Z quand l'expression de FtsZ est diminuée (par exemple par la surproduction des inhibiteurs MinCD), alors que la souche sauvage n'en fait pas dans de telles conditions (Levin, et al., 1999; Levin, et al., 2001). Ces résultats suggèrent que la protéine EzrA possède une action de déstabilisation des polymères de FtsZ.

EzrA possède un unique domaine membranaire N-terminal et un large domaine C-terminal cytoplasmique (Levin, et al., 1999). Elle se répartit tout le long de la membrane cytoplasmique et inhibe la polymérisation de FtsZ au niveau des pôles de la cellule en séquestrant les monomères solubles (rôle semblable au système Min) (Haeusser, et al., 2004; Levin, et al., 1999; Levin, et al., 2001). Cette inhibition nécessite l'association d'EzrA au domaine C-terminal de FtsZ (Singh, et al., 2007). En effet, *in vitro*, la délétion des 17 derniers résidus de FtsZ rend cette dernière quasiment insensible à l'inhibition par EzrA et l'ajout en excès d'un peptide correspondant à ces 17 résidus permet de lever cette inhibition (comme ZapA et SepF) (Singh, et al., 2007). Il a également été montré que EzrA possède un motif nommé le « QNR patch » nécessaire à sa localisation à l'anneau Z mais pas à son action sur FtsZ *in vitro* (Haeusser, et al., 2007). Ainsi, EzrA est également recruté au septum par FtsZ et pourrait avoir un rôle actif sur le maintien de la dynamique d'échange de monomères de FtsZ au niveau de l'anneau septal. Enfin, du fait de sa topologie, il est envisagé que EzrA participe à l'ancrage de l'anneau Z à la membrane.

A.3. La machinerie de synthèse du peptidoglycane

Le peptidoglycane est le composant majeur de la paroi des bactéries auquel il procure rigidité et solidité.

Les bactéries dites à Gram positif (Figure 16) possèdent un peptidoglycane épais, jusqu'à 80 nm d'épaisseur, constitué par un empilement de brins de peptidoglycane qui sont en contact direct avec le milieu extracellulaire. On note aussi la présence d'acides téichoïques (polymère à base de ribitol et glycérol phosphate) qui traversent le peptidoglycane. Certains sont ancrés directement dans la membrane plasmique par l'intermédiaire d'une partie lipidique et portent le nom d'acides lipotéichoïques.

A l'inverse, la paroi de bactéries gram-négatives (Figure 16) montre une structure plus complexe. Elles possèdent une membrane externe en plus du peptidoglycane qui est ici très fin puisque sa taille moyenne n'est que de quelques nanomètres avec souvent seulement une ou deux couches de brins de peptidoglycane. La membrane externe, qui entoure la cellule (peptidoglycane compris) ressemble à une membrane biologique classique : double couche de phospholipides incluant des protéines comme par exemple des porines. La membrane externe crée une barrière imperméable qui délimite, ainsi, l'espace périplasmique. Cet espace contient de nombreuses protéines.

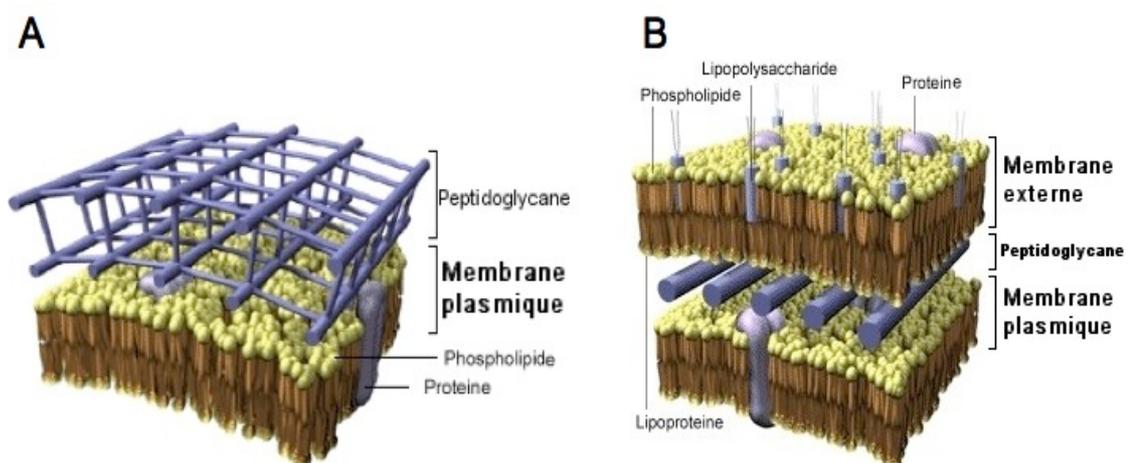


Figure 16 : Représentation en trois dimensions de la structure de la paroi des bactéries gram positives (A) et gram négatives (B)

(http://stl_bjb.ac-dijon.fr/microbio.htm)

Au cours de leur croissance, les cellules mères synthétisent du peptidoglycane pour grossir et se diviser en deux cellules filles. Ainsi, de nombreuses études ont mis en évidence l'existence de deux voies d'insertion du peptidoglycane néosynthétisé ; l'une périphérique et l'autre septale pour la séparation des cellules filles (Figure 2) (I.A.3.5). Deux complexes semblent impliqués dans ces voies d'insertion ; le complexe de septation et le complexe d'élongation (I.A.3.5).

A.3.1 La structure du peptidoglycane

Le peptidoglycane (Figure 17) est un polymère de longues chaînes glucidiques reliées entre elles par des ponts peptidiques flexibles qui forment une structure solide mais non figée. Les longues chaînes glucidiques sont formées par l'alternance de N-Acétyle-Glucosamine (NAG) et de N-Acétyle-Muramique (NAM) reliés par des liaisons osidiques β 1-4. La fonction acide carboxylique du résidu lactyl du NAM est impliquée dans une liaison amidique avec de courts peptides de 4 acides aminés. La réticulation du peptidoglycane est réalisée par des ponts entre les peptides des chaînes glucidiques (Ghuysen, et al., 1994; Goffin and Ghuysen, 1998).

La composition des chaînes glucidiques varie peu d'une bactérie à l'autre, par contre leur longueur présente des différences significatives. A l'inverse, les peptides liés au NAM diffèrent grandement entre les groupes bactériens. Ils contiennent des acides aminés de la série D et L et un acide aminé dibasique qui est souvent l'acide diamino-pimélique (mA_2pm) ou la L-lysine (L-Lys), permettant la formation du pont peptidique. Le peptide le plus fréquemment trouvé est : $L-Ala_{(1)}-D-Glu_{(2)}-mA_2pm_{(3)}-D-Ala_{(4)}$; avec le résidu $L-Ala_{(1)}$ attaché au NAM. Le pont peptidique est formé par une réaction de transpeptidation reliant la $D-Ala_{(4)}$ d'une chaîne à un groupe amino-acide libre du résidu mA_2pm d'une autre chaîne. Dans certains organismes, les liaisons peptidiques sont formées par un pont de 5 glycines (*Staphylococcus aureus*). Le degré de réticulation (% de ponts peptidiques formés par rapport aux nombres total de ponts peptidiques potentiels) peut varier de 40 à 60% pour *E. coli* et *B. subtilis* et jusqu'à 90% pour les Staphylocoques (Scheffers and Pinho, 2005).

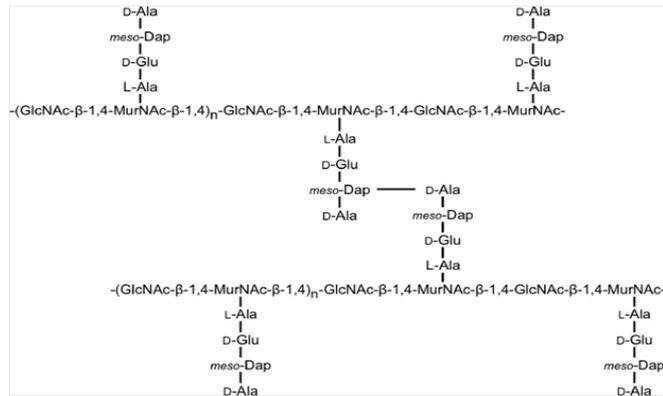
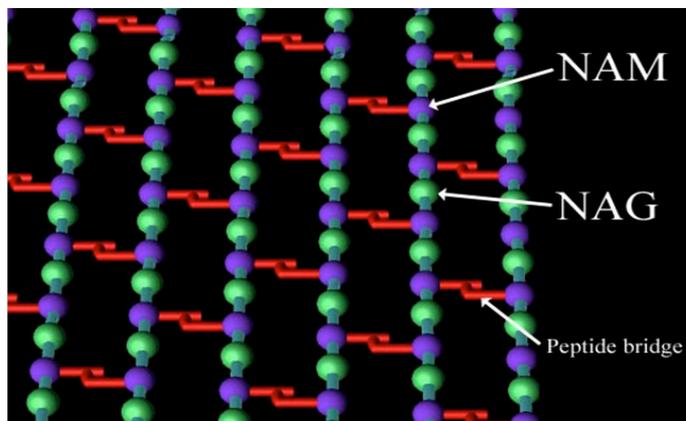
A**B**

Figure 17 : Représentation schématique de la structure du peptidoglycane

(A) structure linéaire du peptidoglycane présentant l'alternance NAG-NAM et les peptides pontants.

(B) Représentation en trois dimensions du peptidoglycane (Timothy Paustian, University of Wisconsin-Madison).

A.3.2 Synthèse du peptidoglycane : rôle des « Penicillin Binding Proteins » (PBPs)

L'assemblage complet du peptidoglycane (Figure 18) nécessite une glycosyl transférase qui permet la polymérisation des brins glucidiques et une transpeptidase qui assure la connexion entre eux via leurs chaînes peptidiques latérales. Ces activités sont catalysées par la famille des protéines liant la pénicilline (les PBPs) ; nommées ainsi en raison de leur affinité pour cet antibiotique. Les PBP se répartissent en trois catégories (Ghuysen, 1994) : Les PBPs

de haut poids moléculaires (HMW PBP) de classe A et celles de classe B, et les PBPs de faibles poids moléculaires (LMW PBPs) (Ghuysen, 1994).

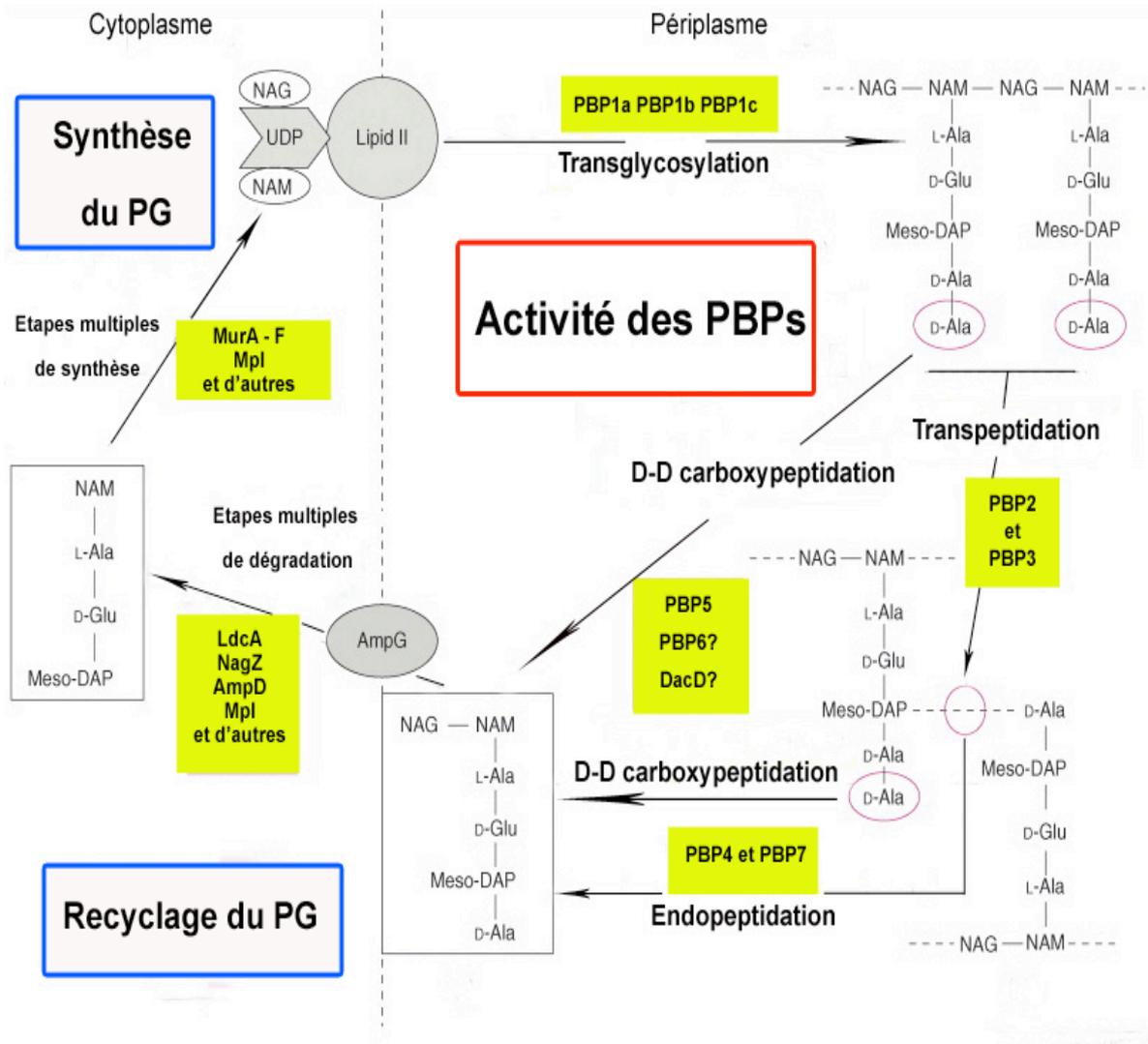


Figure 18 : Représentation de l'activité de différentes PBPs de *E. coli*

HMW PBP de classe A : PBP1a, PBP1b, PBP1c / HMW PBP classe B : PBP2, PBP3 / LMW à activité carboxypeptidase (type 5) : PBP5, PBP6, DacD / LMW à activité endopeptidase (type 4) : PBP4, PBP7. (Ghosh, et al., 2008).

A.3.2.1. Les PBPs de haut poids moléculaires de classe A

Les HMW PBPs de classe A possèdent à la fois une activité transglycosylase et une activité transpeptidase et jouent un rôle central dans la polymérisation du peptidoglycane. Une étude montre qu'elles interviendraient soit dans la synthèse du peptidoglycane périphérique soit dans celle du peptidoglycane septal (Morlot, et al., 2003).

E. coli possède trois HMW PBPs de classe A (PBP1a, PBP1b et PBP1c). Les simples mutants $\Delta pbp1a$ et $\Delta pbp1b$ ne présentent aucun défaut morphologique, tandis que le double mutant $\Delta pbp1a\Delta pbp1b$ n'est pas viable, suggérant une certaine redondance de fonction entre ces deux protéines. Le rôle de PBP1c n'est pas connu, son absence n'entraîne aucun phénotype, même en combinaison avec la délétion de *pbp1a* ou *pbp1b* (Sauvage, et al., 2008).

Chez *B. subtilis*, la situation est quelque peu différente puisque la co-délétion des 4 HMW PBPs de classe A est viable, bien qu'elle conduise à un retard de croissance et quelques défauts morphologiques. Ainsi, un autre facteur, à identifier, serait responsable de l'activité glycosyltransférase chez cette bactérie (den Blaauwen, et al., 2008). Par ailleurs, il a été montré que PBP1 faisait partie intégrante du complexe de septation et était essentielle lors du phénomène de sporulation (Scheffers and Pinho, 2005).

A.3.2.2. Les PBPs de haut poids moléculaires de classe B

Elles sont plus petites que les PBPs de classe A, dépourvues d'activité transglycosylase, mais cruciales pour la morphologie des cellules. Chez *E. coli*, deux membres de la classe B, Pbp2 (*mrda*) et Pbp3 (*ftsI*), interviennent dans la synthèse du peptidoglycane (Nanninga, 1998; Popham and Young, 2003). La délétion du gène *mrda* entraîne un arrondissement des cellules qui se mettent à ressembler à des sphères, probablement à cause de la perte de capacité à synthétiser le peptidoglycane dans la partie cylindrique de la bactérie (peptidoglycane périphérique). Au contraire, la délétion du gène *ftsI* entraîne une filamentation des cellules, suite à l'arrêt de la synthèse de peptidoglycane septal. Cette observation a également été faite chez *Streptococcus pneumoniae* où PBP2x est spécialisée dans la synthèse du peptidoglycane septal et PBP2b dans la synthèse du peptidoglycane périphérique (Morlot, et al., 2003).

Chez *E. coli* et *B. subtilis*, la protéine Pbp3 (FtsI), bien conservée dans l'ensemble des bactéries, est essentielle à la division cellulaire et fait partie intégrante du complexe de septation. FtsI est relativement stable et seules quelques dizaines de molécules sont présentes dans une cellule de *E. coli* (la surproduction n'affecte pas la viabilité cellulaire). Elle possède un petit domaine N-terminal transmembranaire et un large domaine C-terminal périplasmique. Ce dernier comprend un domaine de 200 acides aminés de fonction peu connue (domaine nPBP) et un domaine d'environ 300 acides aminés caractéristique des PBPs (domaine PBP) (Bowler and Spratt, 1989). Chez les bactéries gram-négatives, FtsI agirait en un complexe multiprotéique qui introduirait trois unités de glycane en parallèle de l'hydrolyse d'une unité déjà en place (Figure 19) (Adam, et al., 1997; Holtje, 1998). Néanmoins, la manière dont FtsI s'intègre dans le complexe de septation est mal connue.

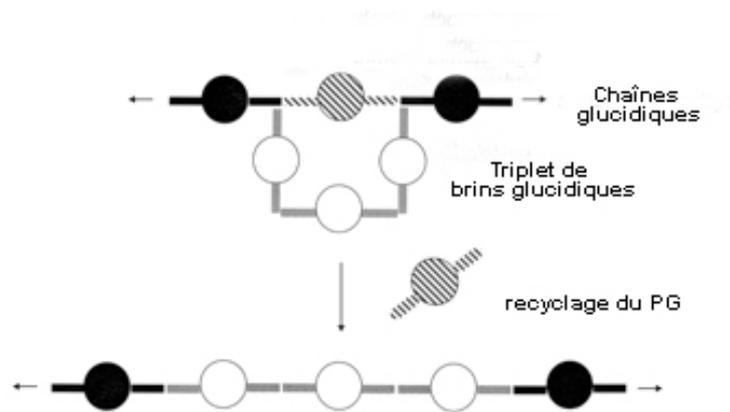


Figure 19 : Représentation d'un modèle pour l'insertion de nouveaux brins de peptidoglycane (Scheffers and Pinho, 2005)

La structure cristallographique de la partie extracellulaire de la protéine FtsI de *S. pneumoniae* (PBP-2X) a été résolue (Dessen, et al., 2001; Pares, et al., 1996). La structure du domaine PBP est caractéristique du domaine catalytique des transpeptidases, tandis que le domaine nPBP présente une structure en « sugar tongs » qui s'insère dans un feuillet β du domaine PBP. Des analyses suggèrent un rôle de chaperone du domaine nPBP nécessaire au bon repliement du domaine PBP (Nguyen-Disteche, et al., 1998). Ce domaine pourrait également être impliqué dans les interactions de FtsI avec les autres composants du complexe de septation, ou dans la synthèse du peptidoglycane (Harry, et al., 2006).

A.3.2.3. Les PBPs de faible poids moléculaire

Les LMW PBPs interviennent dans la modification du peptidoglycane, et non dans sa synthèse. Elles sont capables d'enlever le résidu D-alanine terminal des chaînes latérales de pentapeptide (activité carboxypeptidase – type 5) ou de cliver le peptide qui lie deux chaînes glucidiques entre elles (activité endopeptidase – type 4). Une autre sous famille dont l'activité n'est généralement pas déterminée est le type AmpH. De manière générale, les LMW PBPs sont impliquées dans la cytokinèse, la séparation des deux cellules filles, la maturation du peptidoglycane ainsi que son recyclage (Sauvage, et al., 2008) (Morlot, et al., 2004).

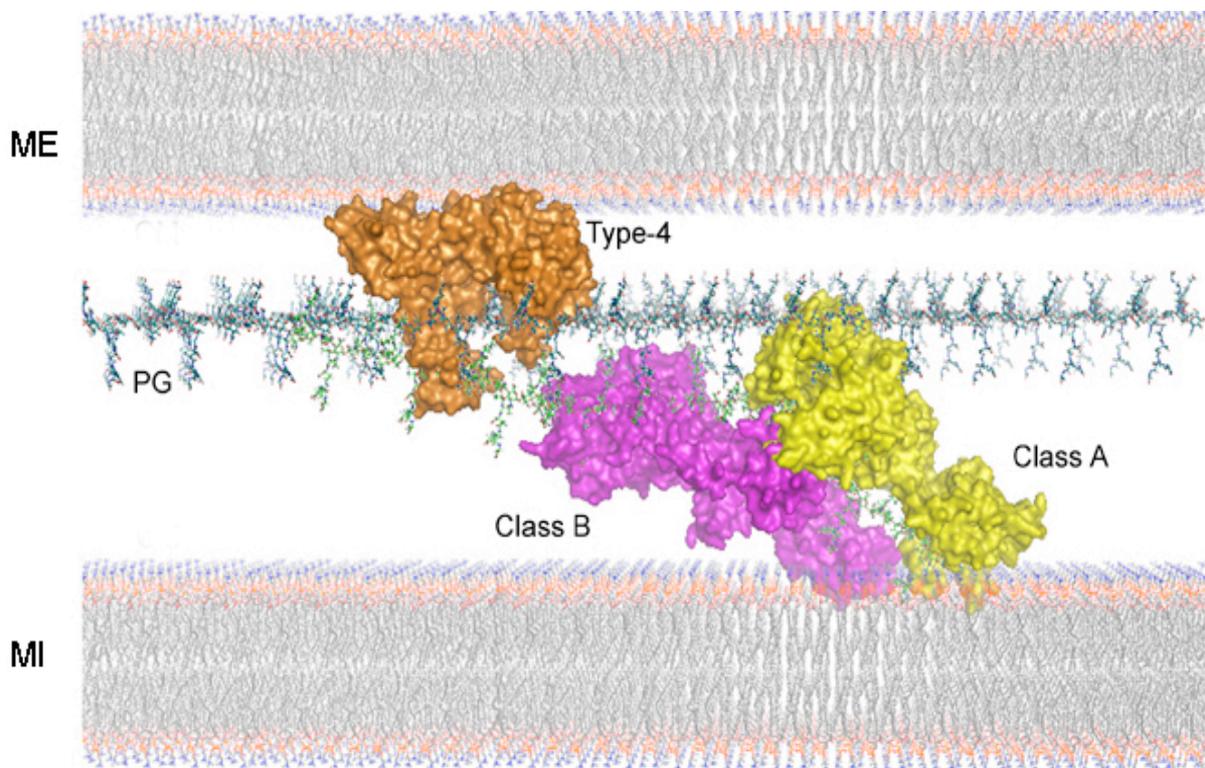


Figure 20 : Représentation tridimensionnelle de l'agencement dans la membrane de *E. coli* de différentes PBPs

Représentation de l'agencement dans la membrane des HMW PBPs de class A (class A – Jaune), des HMW PBPs de classe B (class B – magenta) et d'une LMW PBP de type 4 (PBP4 de *E. coli* – activité endopeptidase – orange). L'ancien peptidoglycane est en bleu tandis que le nouveau est en vert. ME – membrane externe ; MI – membrane interne. (Sauvage, et al., 2008)

A.3.3 Le complexe de synthèse du peptidoglycane septal

A.3.3.1. Dynamique d'assemblage du complexe chez *E. coli* et *B. subtilis*

Chez *E. coli*, l'assemblage de l'anneau Z précède de 14 à 21 minutes le recrutement des protéines du complexe de septation (Aarsman, et al., 2005). Ceci suggère l'existence de facteurs non identifiés régulant la formation du complexe de septation et le processus de cytokinèse.

Les mécanismes d'assemblage des protéines du complexe de septation, révèlent de surprenantes différences entre *E. coli* et *B. subtilis* (Figure 21).

Chez *E. coli*, le recrutement des différents facteurs de septation à l'anneau septal semble se faire de manière séquentielle selon le schéma suivant : [FtsEX →] FtsK → FtsQ → (FtsL / FtsB) → FtsW → FtsI → FtsN → AmiC (FtsEX n'est nécessaire qu'en conditions de stress osmotique; il ne serait ainsi pas directement impliqué dans ce recrutement séquentiel) (Aarsman, et al., 2005; Chen and Beckwith, 2001; Schmidt, et al., 2004). Cependant, les protéines FtsQ, FtsL et FtsB semblent s'associer en pré-complexe avant leur recrutement au septum (Buddelmeijer and Beckwith, 2004; Goehring, et al., 2005; Vicente and Rico, 2006) (Goehring and Beckwith, 2005; Vicente and Rico, 2006).

Au contraire, chez *B. subtilis*, les protéines semblent être recrutées à l'anneau septal de manière plus concertée que séquentielle (Errington, 2001). Ainsi, DivIB (FtsQ), DivIC, FtsL, PBP-2B et probablement FtsW sont toutes interdépendantes pour leur localisation (Errington, et al., 2003a); l'absence d'une seule de ces protéines empêche l'assemblage de toutes les autres. Ces observations suggèrent que ces facteurs s'assemblerait tous en pré-complexe(s) avant de venir s'ancrer sur l'anneau Z

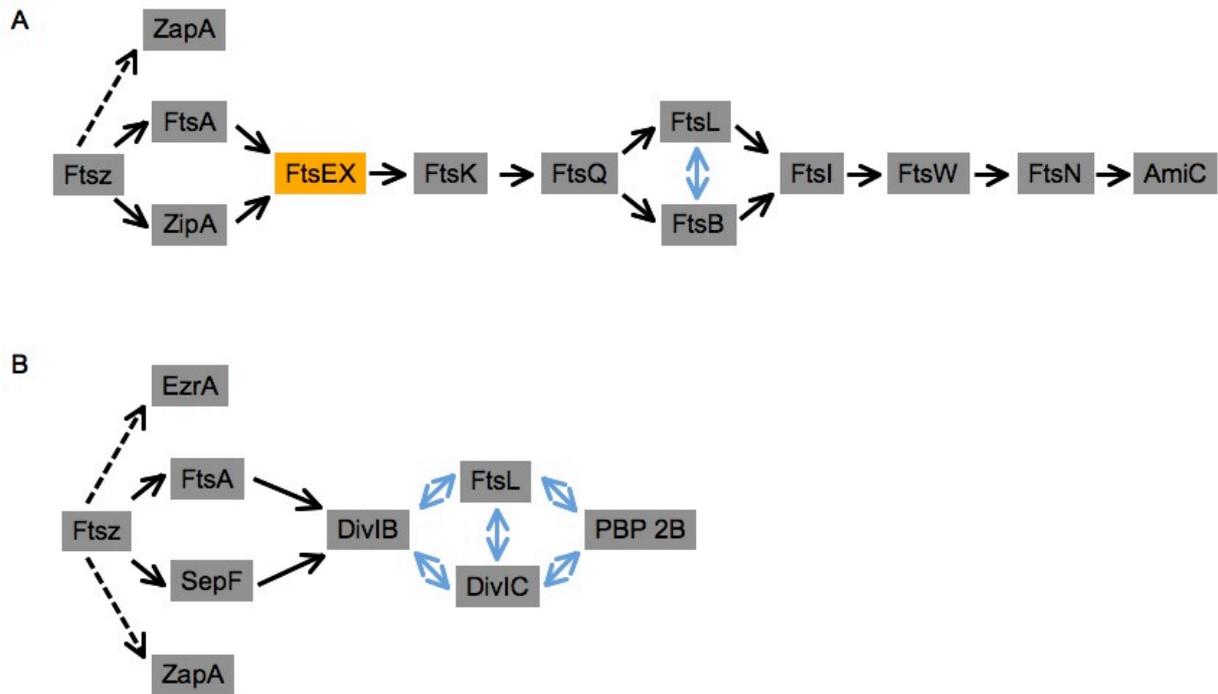


Figure 21 : Schéma des conditions de recrutement au septum des protéines du complexe de division chez *E. coli* (A) et *B. subtilis* (B)

(A) Chez *E. coli*, la formation de l'anneau Z nécessite les protéines septales ZipA ou FtsA dont l'absence simultanée bloque la division cellulaire. Ensuite, le recrutement des autres protéines au septum est séquentiel. Il intervient dans l'ordre indiqué par les flèches noires qui pointent vers les protéines de plus en plus "tardives". FtsEX (en orange) n'est nécessaire qu'en conditions de stress osmotique et ne serait, ainsi, pas directement impliqué dans ce recrutement séquentiel

(B) Chez *B. subtilis*, la formation de l'anneau Z nécessite les protéines septales FtsA ou SepF. Ensuite, le recrutement des autres protéines est moins séquentiel que chez *E. coli*. Les protéines sont inter-dépendantes comme représenté avec les doubles flèches bleues. DivIB est, chez *B. subtilis*, l'homologue de la protéine FtsQ de *E. coli*. (Harry, et al., 2006).

Les pointillés indiquent que la protéine n'est pas nécessaire au recrutement des facteurs suivant mais est impliquée dans la formation ou la stabilisation du complexe. La fonction de l'homologue de FtsW chez *B. subtilis* n'a pas encore été vérifiée.

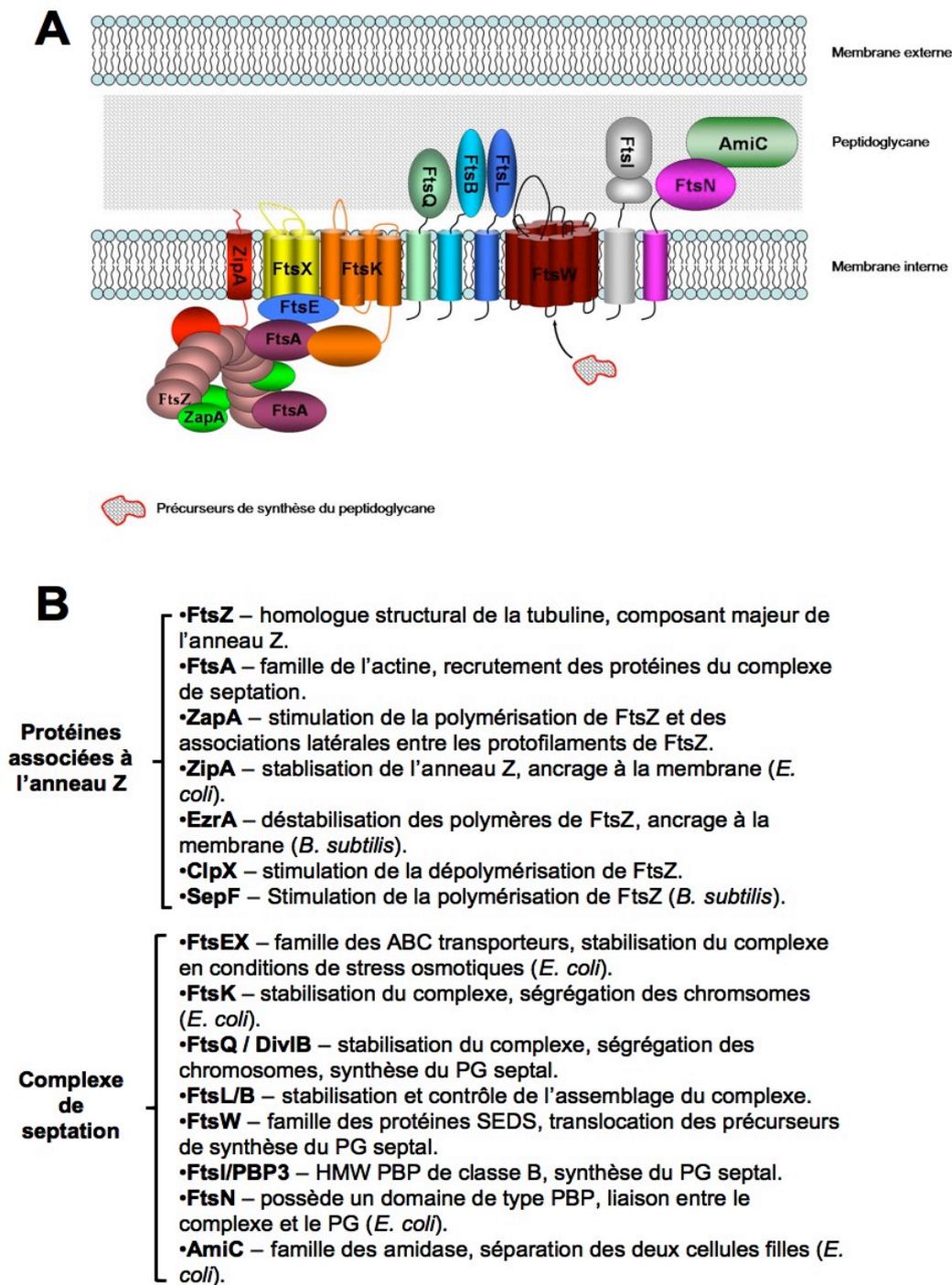


Figure 22 : Présentation d'un schéma du complexe de cytokinèse de *E. coli* (A) et des différents acteurs de la cytokinèse bactérienne de *E. coli* et *B. subtilis* (B)

(A) Schéma du complexe de cytokinèse de *E. coli* (Goehring and Beckwith, 2005).

(B) Les différents protéines cytokinétiques chez *E. coli* et *B. subtilis*, indiquées entres parenthèses. Leur fonction connue ou présumée ainsi que leurs particularités (domaine, famille protéique) sont indiquées. PG : peptidoglycane.

A.3.3.2. Le complexe FtsE/FtsX d'*E. coli* intervient dans la stabilisation du complexe de cytokinèse en conditions de stress osmotique

FtsE/X → FtsK → FtsQ → FtsL/B → FtsW → FtsI → FtsN → AmiC

L'un des composants septal récemment identifiés chez *E. coli* est le complexe FtsEX, prédit comme un transporteur de type ABC, qui interviendrait dans la stabilisation du septosome en conditions de stress osmotique. Les simples mutants de délétion de ces gènes n'ont pas de défauts morphologiques en conditions optimales de culture; mais ils présentent un phénotype filamenteux lors d'un stress osmotique (Reddy, 2007; Schmidt, et al., 2004). Le recrutement de FtsEX au septum est dépendant de la présence des partenaires précoces de FtsZ, FtsA et ZipA, tandis que les protéines tardives FtsK, FtsQ, FtsL et FtsI dépendent du complexe FtsEX (fonctionnel) pour leur localisations en conditions de stress osmotique (Schmidt, et al., 2004). Une analyse des partenaires de FtsX par double hybride, a montré une interaction de FtsX avec FtsA et FtsQ (Karimova, et al., 2005).

A.3.3.3. Le rôle de la protéine FtsK dans les processus de cytokinèse et de ségrégation des chromosomes

FtsE/X → FtsK → FtsQ → FtsL/B → FtsW → FtsI → FtsN → AmiC

FtsK, chez *E. coli*, est une grosse protéine, de 1329 acides aminés, multi-fonctionnelle, et essentielle au bon déroulement de la division. Toutefois, son absence peut être partiellement compensée par la surexpression de certaines protéines comme FtsQ ou FtsN suggérant que son rôle principal est de stabiliser le complexe de cytokinèse (Draper, et al., 1998; Geissler and Margolin, 2005; Goehring, et al., 2006).

FtsK comprend deux domaines protéiques séparés par un lien flexible non conservé. Le domaine N-terminal, d'environ 200 acides aminés, contient quatre segments transmembranaires essentiels à la localisation de FtsK au niveau du septum, et au recrutement de toutes les protéines membranaires du complexe de cytokinèse. (Begg, et al., 1995; Chen and Beckwith, 2001; Dorazi and Dewar, 2000; Draper, et al., 1998; Wang and Lutkenhaus, 1998; Yu, et al., 1998). Le domaine C-terminal, cytoplasmique, est nécessaire à la ségrégation des

chromosomes fils au cours de la cytokinèse (c'est vital pour que les deux cellules filles reçoivent un génotype complet) et semble être le moteur de la translocation de l'ADN. Il est divisé en trois sous domaines : α , β , γ . Le domaine C terminal est un activateur des recombinases XerC et XerD qui séparent les chromosomes fils nouvellement répliqués (Figure 22). FtsK possède une activité translocase qui lui permet de migrer le long d'une molécule d'ADN à la vitesse de 7 kb.s^{-1} en utilisant l'énergie libérée par l'hydrolyse de l'ATP (Pease, et al., 2005; Saleh, et al., 1996). La résolution récente de la structure cristallographique du domaine cytoplasmique de FtsK de *P. aeruginosa* (Massey, et al., 2006) a montré qu'elle s'assemble en hexamère formant ainsi un anneau dans lequel peut s'insérer un fragment d'ADN double brin (Figure 23).

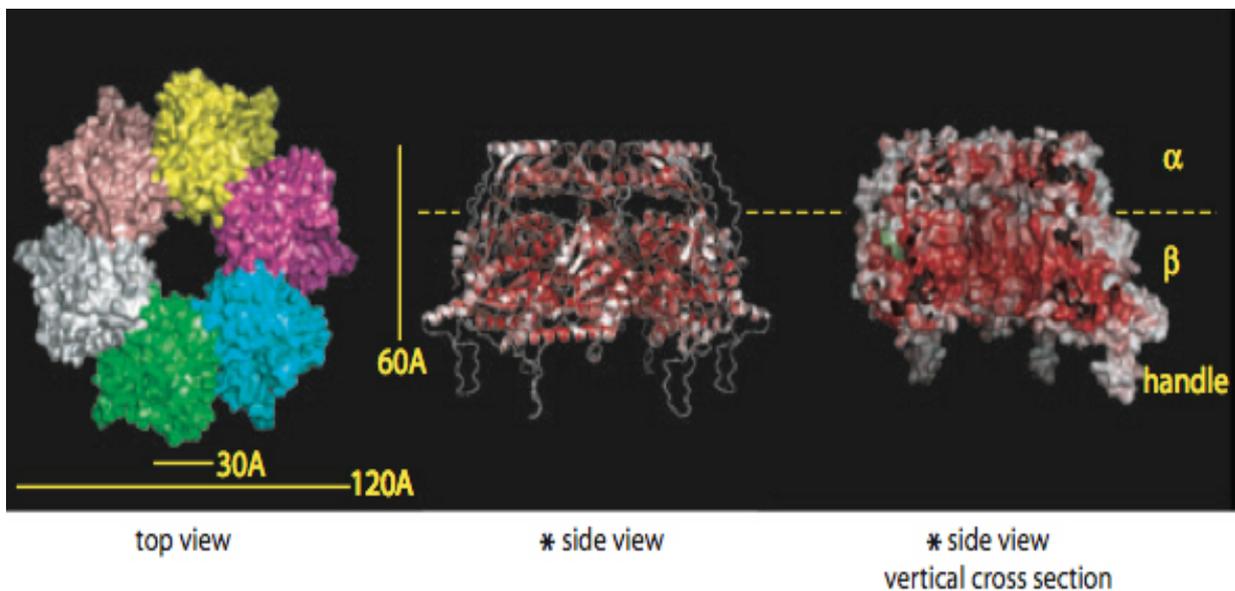


Figure 23 : Images de la structure cristallographique d'un hexamère de FtsK de *P. aeruginosa*

La vue du haut (top view) montre les 6 unités formant l'hexamère. La vue de côté (side view) montre les acides aminés colorés en rouge avec une intensité proportionnelle à l'importance de leur conservation. La coupe sagittale de la vue de côté (side view, vertical cross) montre bien la conservation des résidus formant le tunnel de l'hexamère dans lequel peut s'insérer un fragment d'ADN double brin (Bigot, et al., 2007).

Bien que FtsK soit rapidement recrutée au septum, la résolution des dimères de chromosomes ne semble intervenir que tardivement au cours du cycle cellulaire et de manière concomitante à la constriction du septum (Steiner and Kuempel, 1998). En fait, l'hexamère de FtsK ne se formerait qu'au moment de l'invagination du septum du fait de la faible concentration de FtsK et de sa faible constante d'association (Kennedy, et al., 2008). Ce modèle est soutenu par deux observations ; (i) l'auto-interaction de FtsK n'est pas détectée en double-hybride (Di Lallo, et al., 2003) et (ii) la formation *in vitro* de l'hexamère de FtsK nécessite une concentration élevée de cette protéine, (Massey, et al., 2006). L'augmentation de la concentration locale de FtsK lors de la constriction du septum permettrait ainsi la formation d'hexamère de FtsK nécessaire à sa fonction de translocase.

FtsK grâce aux fonctions distinctes de ses domaines N- et C-terminaux, participerait au couplage entre la cytokinèse et la résolution puis la ségrégation des chromosomes fils de part et d'autre du septum (Figure 24) (Aussel, et al., 2002; Recchia, et al., 1999; Yates, et al., 2003; Yu, et al., 1998)

Une autre protéine, MukB, participe à la ségrégation des chromosomes fils pendant la cytokinèse chez *E. coli*. La délétion du gène *mukB* produit des cellules dépourvues d'ADN. Elle est létale dans une souche mutante où la protéine FtsK est tronquée de son domaine C-terminal (Yu, et al., 1998), suggérant une redondance de fonction de MukB et FtsK. MukB fixe l'ADN sans spécificité de séquence et est capable de compacter de l'ADN plasmidique *in vitro* (Niki, et al., 1992; Niki, et al., 1991; Saleh, et al., 1996; Yamanaka, et al., 1994; Yamazoe, et al., 1999).

Un homologue de la protéine FtsK a été mis en évidence chez *B. subtilis* : SpoIIIE. Il a été observé que cette protéine est essentielle uniquement lors du processus de sporulation (Wu and Errington, 1997).

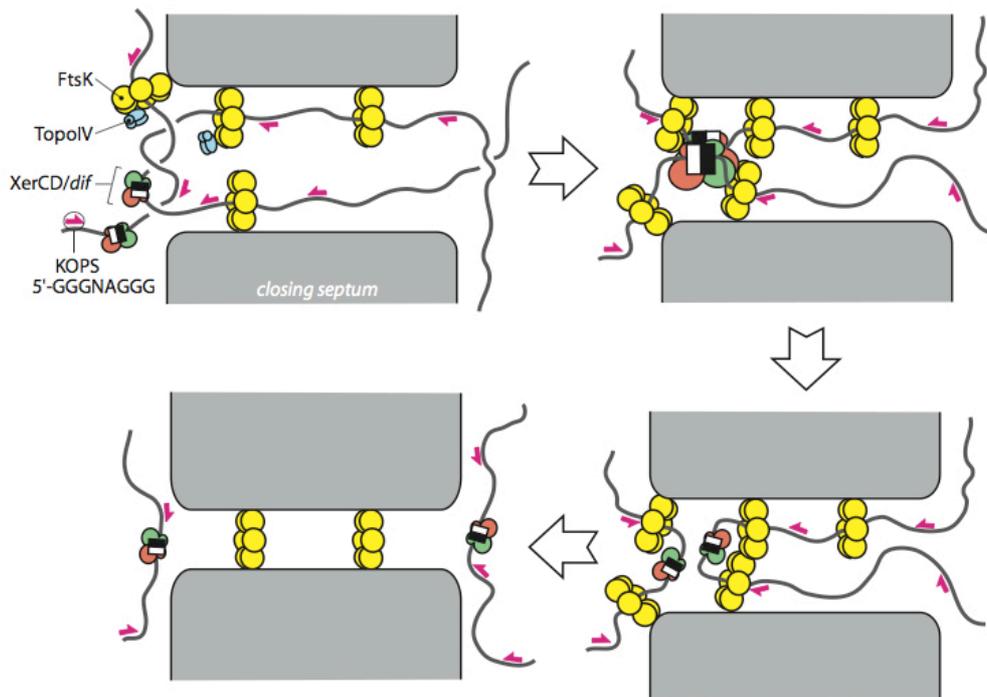


Figure 24 : Schéma du rôle de FtsK lors de la ségrégation des chromosomes au cours de la septation

Le schéma représente la partie centrale d'une bactérie en division qui va donner naissance à deux cellules filles, non représentées, à gauche et à droite de la structure qui se referme. Les larges flèches blanches montrent la succession des étapes. Les divers acteurs sont représentés avec les couleurs indiquées entre parenthèse: le septum (en gris), les hexamères de FtsK (en jaune), la topoisomérase IV (en bleu), le complexe de recombinaison XerCD/dif (en vert, orange, noir et blanc) et certaines séquences d'ADN appelées "KOPS" (demi flèches rouges) nécessaires à la résolution des dimères de chromosomes. FtsK se lie à l'ADN (long filaments gris) en reconnaissant les séquences KOPS et chemine jusqu'aux complexes XerCD/dif. Ceci permet de déplacer un des deux chromosomes d'un côté du septum et la déconcaténation par la topoisomérase IV. FtsK atteint les complexes XerCD/dif et induit la recombinaison de l'ADN. Les dimères de chromosomes sont résolus et FtsK fini de ségréger les chromosomes permettant ainsi la fermeture du septum sans endommager l'ADN (Bigot, et al., 2007).

A.3.3.4. La protéine FtsQ, un acteur central du complexe de cytokinèse

FtsE/X → FtsK → **FtsQ** → FtsL/B → FtsW → FtsI → FtsN → AmiC

Chez *E. coli*, FtsQ (protéine DivIB chez *B. subtilis*) est une protéine de 276 acides aminés peu abondante (entre 25 et 50 copies par cellules) (Carson, et al., 1991) qui joue un rôle central dans la formation du septosome. C'est une protéine bitopique (Robinson, et al., 1984) consistant en une courte extension N-terminale cytoplasmique d'une vingtaine d'acides aminés, un segment transmembranaire et un large domaine C-terminal périplasmique de plus de deux cents acides aminés (Carson, et al., 1991; Guzman, et al., 1997). Les domaines membranaire et périplasmique jouent un rôle important dans la localisation de la protéine au septum (Chen, et al., 1999; Guzman, et al., 1997; Katis and Wake, 1999; Wadsworth, et al., 2008).

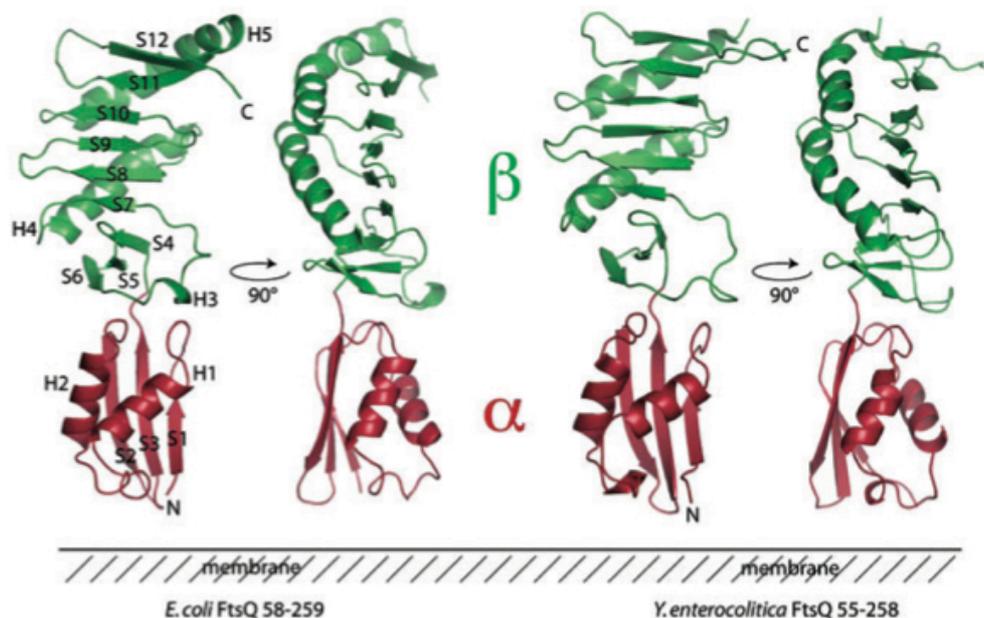


Figure 25 : Représentation tridimensionnelle de la partie périplasmique de FtsQ de *E. coli* (résidus 58-259) et *Yersina enterocolitica* (résidus 55-258)

(van den Ent, et al., 2008)

La structure cristallographique du domaine périplasmique de *E. coli* (Figure 25) (van den Ent, et al., 2008) révèle deux domaines principaux. Le premier, localisé à proximité de la membrane, nommé α , possède une structure similaire aux domaines de type POTRA (« Polypeptide TRansport Associated »). Il pourrait intervenir dans une fonction de chaperone, et serait nécessaire au recrutement de FtsQ au septum. Le deuxième domaine présente une structure courbée et ne possède pas d'homologie avec des domaines connus. Il pourrait participer au recrutement des partenaires de FtsQ: FtsW, FtsI, FtsL/B, FtsN. Certains auteurs considèrent que ce domaine est divisé en deux domaines nommés β et γ . Le domaine γ serait très petit et non présent chez toutes les bactéries (Robson and King, 2006).

Bien que FtsQ ait été découverte il y a plus de 25 ans, son rôle dans la cytokinèse est mal compris. Des tests double-hybride indiquent que FtsQ interagit avec de nombreuses protéines cytokinétiques: FtsA, FtsK, FtsX, FtsL, FtsB, FtsW, FtsI et FtsN (D'Ulisse, et al., 2007; Di Lallo, et al., 2003; Karimova, et al., 2005). Les interactions de FtsQ avec FtsL et FtsB ont été confirmées par co-immunoprécipitation (Buddelmeijer and Beckwith, 2004). Les protéines FtsA et FtsK interagissent avec la partie cytoplasmique de FtsQ; tandis que FtsL, FtsI et FtsN interagissent avec le domaine périplasmique et/ou le fragment transmembranaire de FtsQ. Ces données suggèrent que FtsQ fait le lien entre les composants cytoplasmiques et périplasmiques du complexe cytokinétique et qu'elle participerait à la synthèse du peptidoglycane (Piette, et al., 2004).

L'implication de FtsQ dans la synthèse du peptidoglycane est suggérée par plusieurs observations : (i) cette protéine est bien plus abondante chez *B. subtilis* (protéine DivIVB) qui possède un gros peptidoglycane (une caractéristique habituelle des bactéries Gram positives, I.A.3.1) que chez *E. coli* (Gram négatives, peptidoglycane fin) (Rowland, et al., 1997) (Katis and Wake, 1999) ; (ii) par ailleurs, FtsQ n'est pas nécessaire chez une souche de *E. coli* dépourvue de paroi cellulaire (Siddiqui, et al., 2006) ; (iii) enfin, une étude récente a montré que l'absence de la protéine DivIB chez *S. pneumoniae* augmentait spécifiquement la sensibilité de cette souche résistante aux antibiotiques de type β -lactamase qui sont des molécules inhibant la synthèse du peptidoglycane (Le Gouellec, et al., 2008).

FtsQ pourrait participer à la stabilisation de la protéine FtsL, qui est rapidement dégradée dans un mutant thermosensible de FtsQ. En outre, la surproduction de FtsL permet de compenser l'absence de FtsQ (Daniel and Errington, 2000).

Enfin, il a été montré que FtsQ intervient dans la ségrégation des chromosomes. Ces résultats montrent l'importance de FtsQ dans le processus de division cellulaire (Real, et al., 2005), c'est pourquoi nous l'avons étudié en détail chez notre cyanobactérie modèle

A.3.3.5. Le complexe FtsL/FtsB contrôle l'assemblage du complexe de cytokinèse

FtsE/X → FtsK → FtsQ → FtsL/B → FtsW → FtsI → FtsN → AmiC

La protéine FtsL de *E. coli* est une petite protéine (121 aa) bitopique (comme FtsQ) dont la séquence primaire est mal conservée (Guzman, et al., 1992; Ueki, et al., 1992). Cette protéine possède, dans son domaine C-terminal périplasmique, un motif de type « coil-coiled » (Guzman, et al., 1992), qui sont connus pour participer aux interactions protéines-protéines (Lupas, 1996).

La protéine FtsB de *E. coli* (DivIC chez *B. subtilis*) est également une petite protéine (103 aa) bitopique. Comme FtsL (Daniel, et al., 1998), FtsB est essentielle à la survie de *E. coli* et *B. subtilis* (Buddelmeijer, et al., 2002; Levin and Losick, 1994).

FtsL et FtsB localisent au septum de manière co-dépendante (Buddelmeijer, et al., 2002; Ghigo and Beckwith, 2000; Katis, et al., 1997; Sievers and Errington, 2000a; Sievers and Errington, 2000b). Par ailleurs, des études récentes ont montré que chez *E. coli*, FtsQ, FtsL et FtsB formeraient un hétérotrimère avant leurs localisations à l'anneau septal (Aarsman, et al., 2005; Buddelmeijer and Beckwith, 2004). Il est envisagé que cela soit également le cas chez *B. subtilis*.

FtsL semble jouer un rôle important dans le contrôle de la division cellulaire (Robson, et al., 2002). En effet, lorsque FtsL disparaît, la cytokinèse est rapidement arrêtée (Daniel, et al., 1998). Ainsi, du fait de son instabilité et de son important recyclage, elle peut être rapidement dégradée afin de stopper la division cellulaire (Buddelmeijer, et al., 2002). FtsL intervient dans le couplage réplication de l'ADN avec la division cellulaire. Quand la réplication de

l'ADN s'arrête, la transcription de *ftsL* diminue, la quantité de FtsL baisse entraînant ainsi un arrêt de la cytokinèse (Goranov, et al., 2005). FtsB aurait, elle, un rôle de stabilisation de FtsL (Buddelmeijer, et al., 2002).

A.3.3.6. La protéine FtsW, la probable translocase des précurseurs de la synthèse du peptidoglycane

FtsE/X → FtsK → FtsQ → FtsL/B → FtsW → FtsI → FtsN → AmiC

FtsW appartient à la famille des protéines SEDS (« Shape, Elongation, Division and Sporulation ») (Henriques, et al., 1998; Ikeda, et al., 1989), qui possèdent 10 domaines transmembranaires. Ces protéines interagissent généralement avec une HMW PBP de classe B spécifique. De plus, chez *E. coli*, le gène *ftsW* est situé dans le même opéron que *ftsI* (codant pour la protéine PBP3) (Boyle, et al., 1997; Ishino, et al., 1989) et le gène *mrdB* (codant pour la protéine de type SEDS RodA –I.A.3.5.1) est adjacent au gène *mrdA* (codant pour la protéine PBP2) (Tamaki, et al., 1980). Dans les deux cas (*ftsW-ftsI* ou *mrdB-mrdA*), l'inactivation du gène codant pour la protéine de type SEDS ou du gène codant pour la PBP qui lui est associée conduit à un phénotype similaire. Par ailleurs, parmi les génomes bactériens séquencés, il existe une corrélation parfaite de présence / absence des gènes *ftsW-ftsI* ou *mrdB-mrdA* (Margolin, 2000).

La fonction la plus vraisemblable pour les protéines de type SEDS est l'adressage et le contrôle de la localisation de leur PBP partenaire (Mercer and Weiss, 2002). Il est également suspecté que FtsW soit responsable de la translocation au travers de la membrane des précurseurs lipidiques nécessaires à la synthèse du peptidoglycane (Holtje, 1998). Un tel rôle est en adéquation avec la structure multimembranaire de ces protéines (Figure 26). Des auteurs ont également postulé que cette fonction de translocation puisse être assurée par un multimère de protéines membranaires, non encore identifiées, dans lequel FtsW pourrait être impliquée (den Blaauwen, et al., 2008).

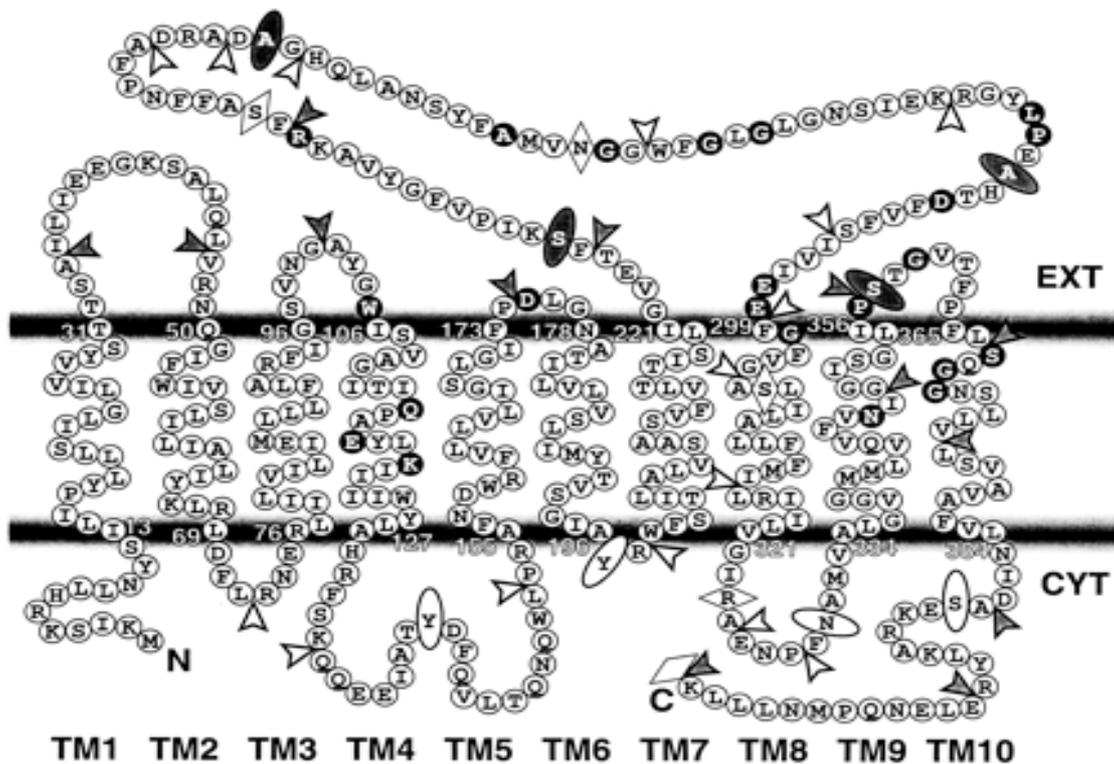


Figure 26 : Schéma de la topologie membranaire de la protéine FtsW de *S. pneumoniae*. Les résidus conservés au cours de l'évolution sont indiqués par des ronds noirs. EXT : milieu externe, CYT : cytoplasme, TM : segment transmembranaire. (Gerard, et al., 2002).

A.3.3.7. La protéine FtsN, un lien entre le complexe de cytokinèse et le peptidoglycane

FtsE/X → FtsK → FtsQ → FtsL/B → FtsW → FtsI → FtsN → AmiC

Le gène *ftsN* a été isolé lors d'une recherche de suppresseurs multicopies d'une mutation thermosensible du gène *ftsA* (Dai, et al., 1993). De manière surprenante, la sur-expression de FtsN est également capable de compléter à divers degrés les mutations thermosensibles de *ftsI*, *ftsQ* et *ftsK* (Dai, et al., 1993). Comme FtsQ, FtsL et FtsB, FtsN est une protéine bitopique possédant un large domaine C-terminal périplasmique. Le fragment transmembranaire est échangeable avec celui d'une autre protéine membranaire et n'a, par conséquent, qu'un rôle de localisation à la membrane. La fonction de FtsN serait donc essentiellement portée par son domaine C-terminal (Dai, et al., 1996). Le domaine C-terminal

de FtsN présente de faibles similitudes de structure avec les domaines de liaison au peptidoglycane susceptible d'indiquer que cette protéine fonctionne comme un « pont » entre le divisome et le peptidoglycane (Yang, et al., 2004). FtsN, en coopération avec FtsK, pourrait également être impliquée dans la stabilisation du complexe de cytokinèse (Goehring, et al., 2006).

FtsN semble conservée seulement chez les bactéries entériques et les espèces de type *Haemophilus* (Errington, et al., 2003a).

A.3.4 La fermeture du septum

Chez les bactéries Gram positives, le septum est formé puis ensuite clivé ; tandis que chez les bactéries gram négatives, le clivage du septum est concomitant à la cytokinèse (Figure 27) (Vollmer, et al., 2008).

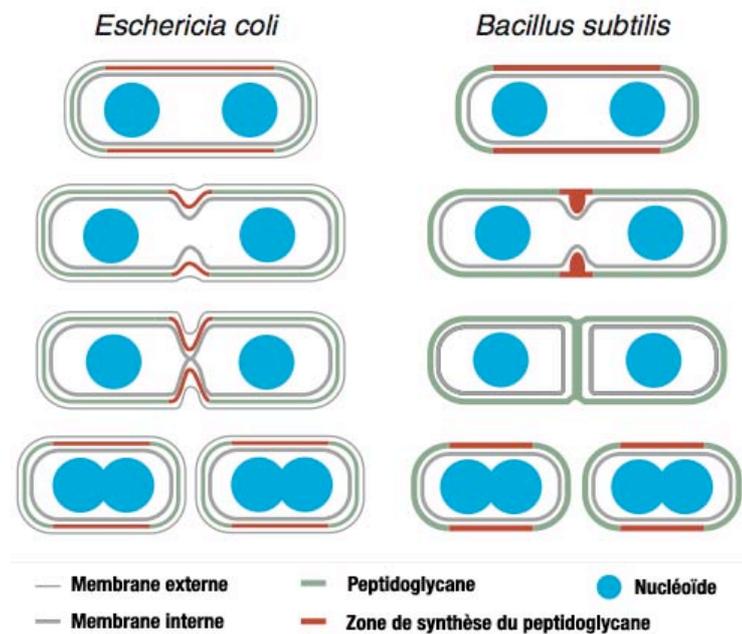


Figure 27 : Schéma du processus de constriction et de séparation des deux cellules filles chez *E. coli* et *B. subtilis*

(Goehring and Beckwith, 2005)

Les hydrolases muréines sont impliquées dans de nombreux processus biologiques et sont notamment suspectées, depuis longtemps, d'être requises pour la séparation des deux cellules filles. Elles constituent un ensemble d'enzymes qui s'attaquent à différents types de liaisons du peptidoglycane.

Chez *E. coli*, il existe 18 hydrolases putatives du peptidoglycane, et il est difficile de mettre leur rôle en évidence car les mutants de ces enzymes redondantes présentent généralement un phénotype sauvage. Cependant la construction de mutants délétés pour de multiples gènes (jusqu'à 9 gènes délétés simultanément) a apporté la preuve de leur participation dans la division cellulaire (Heidrich, et al., 2002). La séparation des cellules filles est retardée dans ces mutants et provoque la formation de chaînes de cellules.

Deux amidases, AmiA et AmiC, sont particulièrement importantes pour ce processus chez *E. coli* (Heidrich, et al., 2001). AmiA est distribué uniformément dans le périplasme, tandis que AmiC se localise à l'anneau septal durant la division (Bernhardt and de Boer, 2003), et dépend pour se faire de la protéine FtsN, ce qui en fait la dernière protéine connue à être recrutée au septum. Plus récemment, une deuxième hydrolase du peptidoglycane, EnvC, qui se localise au septum a été mise en évidence chez *E. coli*. Les conditions de son recrutement ainsi que ces partenaires protéiques ne sont actuellement pas connus.

D'autres travaux ont montré l'importance des protéines LytE / CwIC, LytB et Atl lors de la séparation des cellules filles chez *B. subtilis*, *S. pneumoniae* et *S. aureus*, respectivement (Vollmer, et al., 2008).

Dernièrement, Layec et ses collaborateurs ont montré que chaque groupe bactérien parmi les firmicutes (phylum des bactéries gram positives regroupant entre autres les classes clostridia, bacilli et mollicutes) semblait posséder une enzyme spécifique pour l'hydrolyse du peptidoglycane et la séparation des deux cellules filles. Cette spécificité serait dû à la grande diversité du peptidoglycane rencontré chez ces organismes (tailles des brins de glycanes, diversité dans la composition des peptides latéraux et dans le degré de réticulation) (Layec, et al., 2008). Il est donc envisageable que ceci soit le cas pour bon nombre de bactéries.

Pour finir, il semble qu'une forme spéciale de synthèse du peptidoglycane existe afin d'insérer un petit disque de peptidoglycane au centre du septum. En effet, l'isolation de certains mutants stoppés dans leur division cellulaire mais dont la membrane est déjà fortement invaginée montrent qu'il existe une dernière étape dans le processus de cytokinèse après l'invagination de la membrane (Errington, et al., 2003a). Les protéines impliquées dans cette synthèse ne sont pas connues.

A.3.5 Le complexe d'élongation et de synthèse du peptidoglycane périphérique

Une cellule qui se divise doit tout d'abord augmenter son volume intracellulaire. Différentes études ont mis en évidence l'existence d'un complexe multiprotéique, le complexe d'élongation, assurant la synthèse du peptidoglycane périphérique tout le long du cylindre cellulaire.

Les études chez *E. coli* et *B. subtilis* ont permis de mettre en évidence de nombreux gènes, appelés morphogènes, dont l'absence rend les cellules sphériques (*mreB*, *mreC*, *mreD*, *rodA* et *pbpB*) (Pichoff and Lutkenhaus, 2007b). Ainsi on imagine que la forme sphérique est une forme "par défaut" et on peut-être tenté de généraliser cette interprétation aux bactéries qui sont naturellement sphériques. C'est une des questions qui nous ont conduit à analyser la morphogénèse et la cytokinèse d'une cyanobactérie (microorganisme à fort impact sur l'environnement) sphérique, *Synechocystis* PCC6803 (I.B) qui sert par ailleurs de modèle pour l'étude du métabolisme photosynthétique.

Les gènes *mreB*, *mreC*, *mreD*, *rodA* et *pbpB* sont directement impliqués dans la synthèse du peptidoglycane périphérique chez ces deux organismes. De nombreuses bactéries sphériques, comme *Neisseria gonorrhoeae* et *Staphylococcus aureus*, ne possèdent pas d'homologue de ces protéines et par conséquent de complexe d'élongation assurant la synthèse du peptidoglycane périphérique. Chez ces bactéries, l'insertion du peptidoglycane néosynthétisé semble se faire *via* le complexe de division (Pinho and Errington, 2005). Ce processus permettant le grossissement des cellules avant ou pendant la division ainsi que les protéines impliquées dans cette synthèse demeurent globalement incompris.

Morlot et collaborateurs ont montré chez que chez *Streptococcus pneumoniae* (ovoïde), cette synthèse de peptidoglycane est assurée par deux PBPs (une de classe A et une de classe B). La synthèse semble se faire tout d'abord à proximité du septum puis en s'éloignant au fur et à mesure de la progression du site de division (Figure 28) (Morlot, et al., 2003).

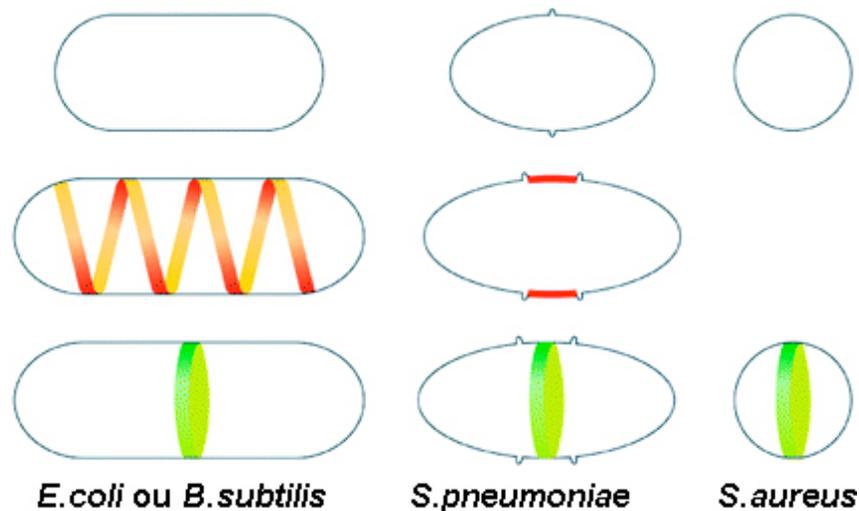


Figure 28 : Schéma des différents lieux de synthèse du peptidoglycane chez *E. coli*, *B. subtilis*, *S. pneumoniae* et *S. aureus*.

Dans des organismes cylindriques tels que *E. coli* ou *B. subtilis*, deux modes de synthèse du peptidoglycane coexiste. Un, selon une structure hélicoïdale (en orange) permettant l'élongation cellulaire ; l'autre au milieu de la cellule permettant la formation du septum (en vert). *S. pneumoniae* s'allonge, elle, par l'insertion de peptidoglycane au niveau des « anneaux équatoriaux » (en rouge). *S. aureus* ne semble pas posséder de complexe d'élongation et le nouveau peptidoglycane est inséré uniquement au site de division selon un processus qui reste incompris. (Scheffers and Pinho, 2005).

A.3.5.1. Rôle des protéines RodA et PBP2

Comme décrit dans la section I.A.3.2.2, il existe chez *E. coli* et de nombreux autres organismes, une HMW PBP de classe B spécifiquement dédiée à la synthèse du peptidoglycane périphérique. Ainsi l'inactivation du gène *mrda* (codant pour PBP2) rend *E. coli* sphérique.

Le gène *rodA* dont l'inactivation rend également *E. coli* sphérique, code, lui, pour une protéine membranaire (figure 29) de la famille SEDS qui semble être l'homologue fonctionnel de la protéine FtsW (I.A.3.3.6).

A.3.5.2. Rôle des protéines du groupe Mre

MreB est une protéine cytosolique, homologue à l'actine des eucaryotes, capable de s'assembler sous forme de câble hélicoïdaux qui sont au contact de la membrane plasmique (Carballido-Lopez and Errington, 2003; Jones, et al., 2001; Kim, et al., 2006). MreC forme une structure similaire mais dans l'espace périplasmique. Enfin, MreD est une protéine membranaire qui semble relier MreB et MreC comme le montrent des analyses de co-immunoprécipitation et de double hybride (YTH) (Kruse, et al., 2005).

Comme mentionné précédemment, les protéines Mre jouent un rôle majeur dans l'insertion du peptidoglycane. En effet, Il semble que le complexe des protéines Mre dirige la localisation de RodA et PBP2 le long et du cylindre (Figure 29) (Pichoff and Lutkenhaus, 2007b). Ainsi, durant l'élongation cellulaire, l'insertion du peptidoglycane néosynthétisé se fait de manière hélicoïdale tout le long du cylindre cellulaire (figure 28) chez *E. coli* comme chez *B. subtilis* (Daniel and Errington, 2003; Tiyanont, et al., 2006).

Certaines bactéries cylindriques, comme *Corynebacterium diphtheriae* et *Streptomyces coelicolor*, ne possèdent pas de protéines de type Mre. Chez *S. coelicolor*, la synthèse du peptidoglycane a lieu aux pôles de la cellules selon un processus impliquant la protéine DivIVA (Flardh, 2003), qui pourrait participer à la formation du cytosquelette chez cet organisme. Chez *C. diphtheriae*, la synthèse du peptidoglycane a lieu à la fois aux pôles et au septum. Il est proposé que la machinerie de synthèse du peptidoglycane soit recrutée durant la septation et que son activité perdure ensuite au niveau des pôles nouvellement formés assurant ainsi la croissance de la bactérie (Daniel and Errington, 2003).

Les bactéries sphériques ne possèdent généralement pas de protéines homologue aux protéines "Mre" soulignant leur rôle dans la morphogénèse des bactéries cylindriques (Daniel and Errington, 2003).

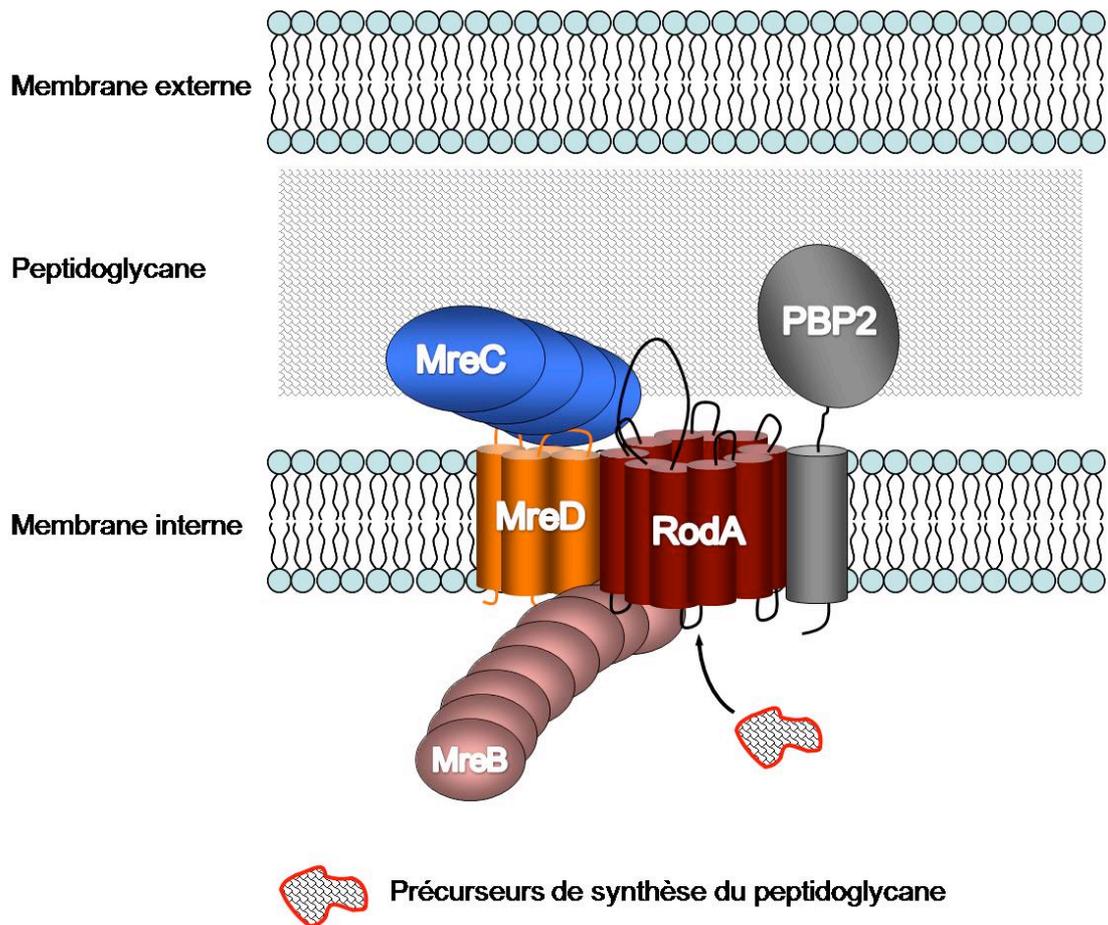


Figure 29 : Représentation schématique du complexe d'élongation

La figure propose un modèle du complexe d'élongation assurant la synthèse du peptidoglycane périphérique chez *E. coli*. Les protéines MreB et MreC forment des structures en hélices respectivement sous la membrane plasmique et dans l'espace périplasmique. Les structures formées par MreB et MreC sont reliées entre elles par MreD. Le complexe MreBCD permet la localisation des protéines RodA (rôle de translocation des précurseurs du peptidoglycane du cytoplasme vers le périplasme) et PBP2 (HMW PBP de classe B) le long du cylindre bactérien.

A.3.5.3. Rôle de FtsZ

Des données récentes montrent que FtsZ interviendrait dans l'élongation et la maintenance de la forme de la paroi cellulaire (peptidoglycane). Ces résultats suggèrent que FtsZ pourrait diriger une synthèse de peptidoglycane indépendamment de facteurs cytokinétiques (comme FtsA ou FtsI) (de Pedro, et al., 1997). Par ailleurs, il a été montré que des souches d'*E. coli* mutées pour certaines PBPs et dont la formation de l'anneau Z était inhibé, présentaient des aberrations morphologiques autres que la filamentation (morphologie en spirale). Ces résultats démontrent que dans certaines conditions, l'arrêt de la formation de l'anneau Z, ne conduit pas seulement à des défauts de division cellulaire mais également à des défauts morphologiques caractéristiques d'une croissance cellulaire défectueuse (Varma and Young, 2004).

Par la suite, les auteurs ont montré que si MreB dirige l'insertion de peptidoglycane de manière hélicoïdale tout le long du cylindre ; cette insertion est également dépendante de FtsZ (Varma, et al., 2007; Varma and Young, 2004). Ainsi, quand la capacité de FtsZ à former un anneau est réduite, l'incorporation de nouveau peptidoglycane a lieu essentiellement au milieu de la cellule et très peu au niveau des pôles. Ces résultats démontrent le rôle de FtsZ dans la conduite de la synthèse du peptidoglycane durant l'élongation. En 2009, Vats et collaborateurs ont confirmé cette hypothèse en montrant que les protéines Mre nécessitent la présence de FtsZ pour leurs localisations (Vats, et al., 2009). Les mécanismes responsables de cette dépendance demeurent, pour le moment, inconnus.

Dernièrement, il a été montré que FtsZ formait des structures hélicoïdales dans le cytoplasme de cellules de souche sauvage de *E. coli* et *B. subtilis*, dans les conditions standard de croissance (Peters, et al., 2007; Thanedar and Margolin, 2004). A ce jour, il n'est pas démontré que ces structures sont responsables du rôle de FtsZ dans la conduite de la synthèse du peptidoglycane périphérique.

B. La division cellulaire chez les cyanobactéries

Malgré leur fort impact sur la biosphère, leur intérêt biotechnologique et le fait que des mutants présentant des défauts de cytokinèse ait été isolés il y a plus de 30 ans (Ingram and Fisher, 1973; Ingram, et al., 1975; Ingram and Van Baalen, 1970; Ingram, et al., 1972) ; on connaît mal la division cellulaire chez les cyanobactéries.

B.1. Les cyanobactéries: des organismes importants pour la biosphère et la biodiversité

Les cyanobactéries sont des procaryotes qui effectuent la photosynthèse oxygénique ; c'est-à-dire qu'elles utilisent la lumière comme source d'énergie pour casser la molécule d'eau. Cette réaction produit l'énergie (ATP) et le pouvoir réducteur (NAD(P)H) nécessaires, notamment, à l'assimilation des nutriments inorganiques (C, N, S, etc.), ainsi que de l'oxygène (O₂), un "déchet" de la réaction pour les organismes photosynthétiques mais une molécule vitale à la respiration. Apparues il y a environ 2,5-3,5 milliards d'années (Awramik, 1992), les cyanobactéries auraient façonné notre planète en produisant son atmosphère oxygénique (Des Marais, 1991). Elles auraient également donné naissance au chloroplaste (l'organite où s'effectuent la photosynthèse) des eucaryotes, suite à l'endosymbiose d'une cyanobactérie ancestrale par un proto-eucaryote (Gray, 1993).

De nos jours, les cyanobactéries demeurent les organismes photosynthétiques les plus abondants de la Planète (Figure 30). Elles assurent 30 à 40% de la production d'O₂ et de la consommation de CO₂ par les océans (Partensky, et al., 1999). Elles produisent une grande partie de la biomasse de la chaîne alimentaire, et représentent ainsi la première barrière biologique contre l'entrée des toxiques dans cette chaîne. Les cyanobactéries représentent également une grande source de biodiversité, que l'on commence seulement à appréhender grâce au séquençage récent de 55 génomes complets de cyanobactéries (CyanoBase <http://genome.kazusa.or.jp/cyanobase>) dont la taille varie de 2400 à 13000 kb. Leur pourcentage en GC (32 à 71 %) couvre l'éventail des valeurs rencontrées dans le monde bactérien. Il existe au moins 2000 espèces de cyanobactéries, réparties dans 5 sections, les Chroococcales, les Pleurocapsales, les Chamaesiphonales, les Stigonématales et les Nostocales

(Figure 31) contenant plus de 150 genres (Svrcek and Smith, 2004; World-Health-Organisation, 1999), qui ont colonisé la plupart des biotopes de la planète: les eaux (douces, saumâtres et marines; à diverses températures 1-70°C et pH 6,5-11-12), et les sols (même désertiques). Les cyanobactéries possèdent des métabolismes variés qui ont un vrai potentiel biotechnologique: production de molécules thérapeutiques (anti-oxydantes, anticancéreuses) (Williams, 2009) (<http://www.spirulina.com/SPBenefits.html>), de bio-énergie (bio-diesel, bio-hydrogène) (Ananyev, et al., 2008; Tamagnini, et al., 2007) et de bio-plastics (Abed, et al., 2009), sans utiliser les terres arables, au contraire de l'agriculture (Dismukes, et al., 2008). Certaines cyanobactéries des genres *Anabaena*, *Aphazinomenon*, *Cylindrospermopsis*, *Microcystis*, *Nodularia*, *Oscillatoria*, *Planktothrix* (Feuillade, 1992) produisent des toxines (cyanotoxines).

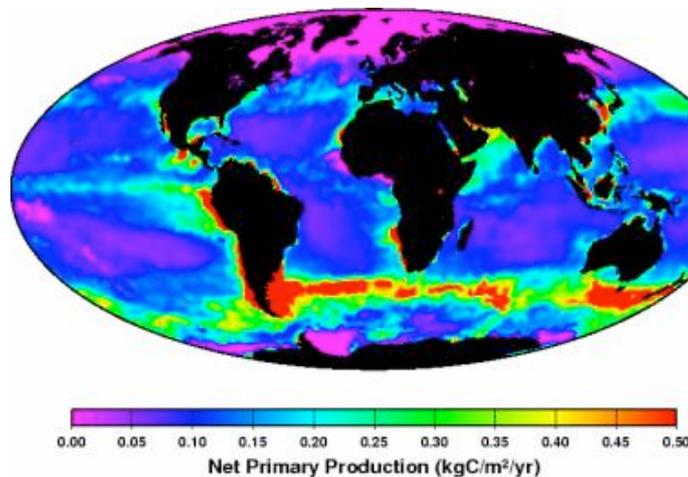


Figure 30 : Images satellites montrant la distribution globale du phytoplancton (cyanobactéries et algues).

(Courtesy of William Dewar, Florida State University)

Toutes les cyanobactéries sont photoautotrophes, mais certaines espèces, comme *Synechocystis* sp. PCC6803 (notre modèle d'étude, que j'appellerai par la suite *Synechocystis*) sont hétérotrophes facultatives et peuvent, ainsi, pousser en absence de photosynthèse, si le milieu contient un substrat carboné (le glucose dans le cas de *Synechocystis*) (Rippka, et al., 1979). Cette propriété a permis l'isolement et l'analyse de mutants déficients dans la photosynthèse qui ont permis la caractérisation détaillée des composants de l'appareil photosynthétique (Barber, 2008).

Les cyanobactéries sont également capables d'utiliser diverses sources d'azote telles que l'ammonium, le nitrate, le nitrite et l'urée (Flores and Herrero, 2005; Valladares, et al., 2002). Certaines sont également capables de fixer l'azote atmosphérique (*Anabaena* PCC7120) en différenciant des cellules spécialisées qu'on appelle hétérocystes (Zhang, et al., 2006; Zhang, et al., 2007).

B.1.1 Diversité morphologique des cyanobactéries

Les cyanobactéries peuvent être unicellulaires, sphériques comme *Synechocystis* sp. PCC6803 ou cylindriques comme *Synechococcus* sp. PCC7942 ; deux cyanobactéries modèles dont l'étude de la division cellulaire a été entreprise récemment (Koksharova and Wolk, 2002; Mazouni, et al., 2004; Miyagishima, et al., 2005). Elles peuvent également être pluricellulaires (figure 2), organisées en filaments linéaires comme *Nostoc* sp. PCC7120 et *Spirulina* sp. ou ramifiés comme *Fischerella* sp. Certaines espèces sont capables de différencier des cellules spécialisées (hormogonies, hétérocystes, akinètes) en réponse aux changements des conditions environnementales.

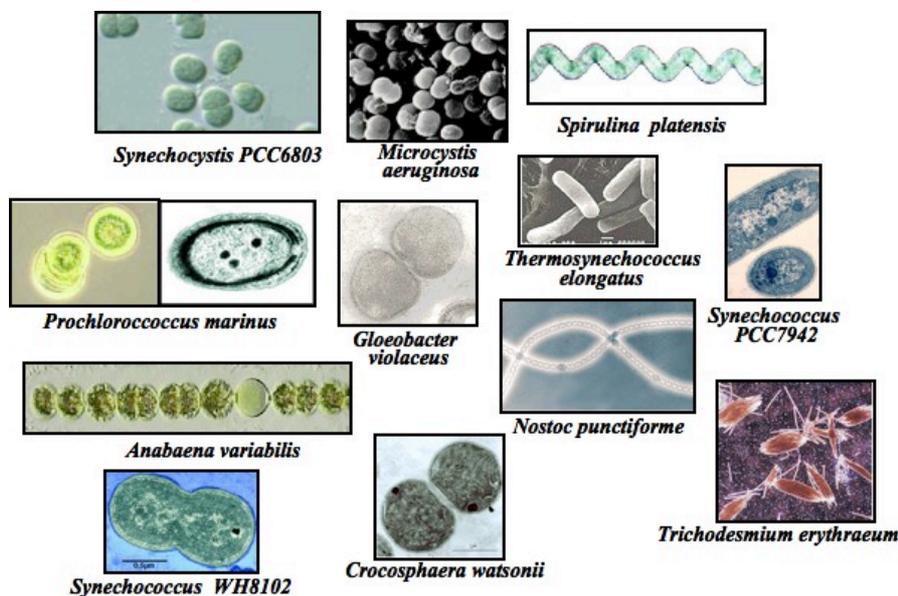


Figure 31 : Photos de différentes espèces cyanobactériennes (DOE institute)

Pour des raisons historiques, la division cellulaire a été essentiellement étudiée chez les deux bactéries hétérotrophes modèles, *E. coli* et *B. subtilis*, qui possèdent une morphologie cylindrique. Leurs cellules possèdent un seul plan cytokinétique médian qui accueille le futur septum. De ce fait, la cytokinèse des cellules sphériques, qui possèdent une infinité de plans médians, est largement méconnue. Les cyanobactéries, qui possèdent des espèces cylindriques et sphériques, dans un contexte génétique et physiologique relativement homogène (ce sont tous des organismes photoautotrophiques), sont particulièrement intéressantes pour l'analyse comparative de la morphogénèse et la cytokinèse des cellules sphériques et cylindriques.

Les cyanobactéries sont également un modèle intéressant pour mieux comprendre la division du chloroplaste qui a une morphologie sphérique et dérive d'une cyanobactérie ancestrale (qui pourrait avoir été de morphologie sphérique).

B.2. La division cellulaire chez la cyanobactérie modèle *Synechocystis* PCC6803

Synechocystis est une cyanobactérie unicellulaire (Rippka, et al., 1979), ce qui facilite l'isolement de mutants déficients. Elle est capable de vivre dans diverses eaux, douces et marines (Richardson, et al., 1983), même à des pH fortement basiques (Summerfield and Sherman, 2008). En laboratoire, on peut cultiver *Synechocystis* en milieu contenant un sucre (Rippka, et al., 1979) ; ce qui permet la sélection et l'analyse de mutants déficients dans la photosynthèse. D'un diamètre cellulaire compris entre 1 à 2 μm , *Synechocystis* possède une double membrane et un périplasme (Figure 32). Elle possède, en outre, des invaginations membranaires, les thylakoïdes, sièges de la photosynthèse, et aussi de la respiration, qui à lieu également dans la membrane cytoplasmique (Cooley and Vermaas, 2001).

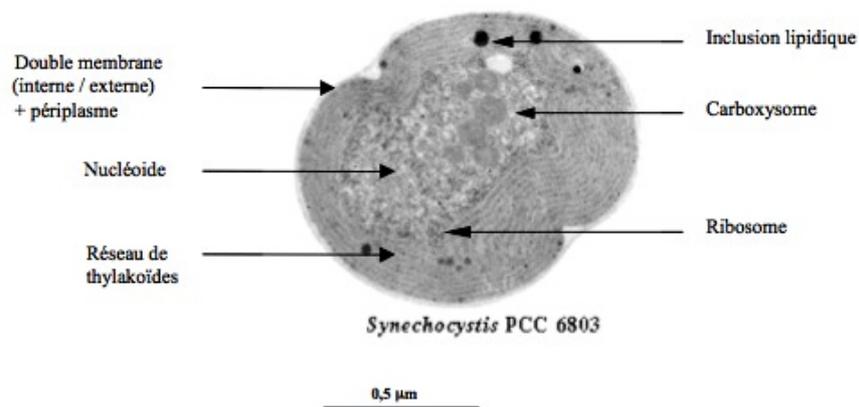


Figure 32 : Coupe d'une cellule de *Synechocystis* PCC6803 observée en microscopie électronique.

(Shinodou Okamoto – <http://cyano.genome.jp>)

Son chromosome circulaire, 3,57 Mb, est de taille comparable à celui d'*E. coli* et de *B. subtilis*. Il a été séquencé entièrement (Kaneko, et al., 1996) avant celui d'*E. coli* (Blattner, et al., 1997). Le chromosome de *Synechocystis* est « polyploïde »; il est présent à raison d'une dizaine de copies par cellule pendant la phase exponentielle de croissance (deux fois moins dans la phase stationnaire), et il semble que toutes les copies soient exprimées (Labarre, et al., 1989). Toutes fonctions cellulaires confondues, *Synechocystis* partage de nombreux gènes avec les plantes soit environ 600 gènes (Martin, et al., 2002), dont 160 de fonction inconnue.

Le génome de *Synechocystis* est facilement manipulable par transformation naturelle (Grigorieva and Shestakov, 1982), qui permet d'inactiver des gènes de façon ciblée, suite à un double évènement de recombinaison génique (conversion génique ou double "crossing-over") (Labarre, et al., 1989) (Math et Meth + figure). On peut également utiliser les plasmides répliquatifs développés au laboratoire (Mermet-Bouvier, et al., 1993) pour manipuler les gènes (Mermet-Bouvier and Chauvat, 1994) même essentiels à la viabilité cellulaire (Poncelet, et al., 1998) ; analyser des promoteurs (Marraccini, et al., 1993; Mazouni, et al., 1998) ; surproduire des protéines de façon conditionnelles, ou analyser leur localisation subcellulaire (Mazouni, et al., 2004).

Synechocystis se divise par fission binaire symétrique, en alternant de façon orthogonale ses plans de division successifs (Mazouni, et al., 2004), comme les bactéries hétérotrophes *S. aureus* (Tzagoloff and Novick, 1977) et *N. gonorrhoeae* (Westling-Haggstrom, et al., 1977).

B.3. La machinerie cytokinétique des cyanobactéries

B.3.1 La protéine FtsZ

Toutes les cyanobactéries dont le génome a été séquencé possède un gène codant pour la protéine FtsZ (Holtzendorff, et al., 2002; Mazouni, et al., 2004; Miyagishima, et al., 2005; Zhang, et al., 1995), qui est au coeur de la machinerie cytokinétique bactérienne (A.2) et chloroplastique (Osteryoung and Vierling, 1995). Au laboratoire, il a été montré que FtsZ est essentielle à la viabilité et à la morphologie de *Synechocystis* ; et que la protéine fusionnée à la GFP est capable de polymériser en anneau au milieu de la cellule, et sous forme de longs polymères *in vitro* (Mazouni, et al., 2004). Chez la cyanobactérie filamenteuse *Anabaena* PCC7120 (Sakr, et al., 2006a) et la cyanobactérie cylindrique *Synechococcus elongatus* PCC7942 (Miyagishima, et al., 2005), FtsZ forme également un anneau septal au milieu des cellules, confirmant ainsi les résultats obtenus chez *Synechocystis*. Par ailleurs, Sakr et collaborateurs ont montré que l'inhibition de la division cellulaire empêche la différenciation des cellules en hétérocystes chez *Anabaena* PCC7120 (Sakr, et al., 2006a), indiquant que certaines protéines impliquées dans la cytokinèse ne sont pas restreintes à ce processus mais jouent également un rôle dans le processus de différenciation cellulaire.

Chez *Arabidopsis thaliana*, deux gènes paralogues de *ftsZ*, résultant probablement d'une duplication, sont présents et chacun est essentiel pour la division du chloroplaste (Osteryoung and Vierling, 1995). Ces deux protéines FtsZ (FtsZ-1 et FtsZ-2) forment une structure annulaire au milieu du chloroplaste. Le rôle exact de chacune des deux protéines demeure incompris.

B.3.2 La protéine ZipN, un partenaire essentiel de FtsZ

ZipN (pour « Z-ring interacting protein N » - gène *ftn2*) est une protéine membranaire, spécifique des cyanobactéries et des plantes, de 79 kDa possédant une large extension cytoplasmique N-terminale et un domaine C-terminal périplasmique (Vitha, et al., 2003). Chez *Synechocystis*, le gène est essentiel à la viabilité cellulaire et le mutant déplété présente une morphologie aberrante en spirale (Mazouni, et al., 2004), indiquant que la protéine est

impliquée dans la morphogénèse et la cytokinèse. En revanche, chez *Synechococcus elongatus* PCC7942, une cyanobactérie cylindrique, le gène *ftn2* n'est pas essentiel et le mutant inactivé présente un phénotype filamenteux (Koksharova and Wolk, 2002). Chez *Anabaena* PCC7120 (Koksharova and Wolk, 2002) (cyanobactérie filamenteuse), l'inactivation du gène (essentiel) conduit à des problèmes de morphologie, de division cellulaire (augmentation de la longueur et du diamètre des cellules) mais également des problèmes de différenciation des cellules en hétérocystes confirmant, ainsi, les résultats obtenus par Sakr et collaborateurs.

Ces données montrent bien la différence entre les morphologies cylindriques et sphériques ; et l'importance de l'analyse de la division cellulaire chez ces dernières également.

ZipN se localise à l'anneau septal et interagit physiquement avec FtsZ (Mazouni, et al., 2004). La partie cytoplasmique de la protéine contient un domaine DnaJ, généralement associé aux protéines de type chaperone, nécessaire à la localisation septale de ZipN et à son interaction avec FtsZ (Mazouni, et al., 2004). L'ensemble de ces résultats suggèrent que, au moins chez *Synechocystis*, ZipN intervient dans la structuration des filaments de FtsZ en un anneau au milieu de la cellule, plutôt qu'en une spirale (Mazouni, et al., 2004). Ainsi, ZipN ressemblerait à la protéine ZipA d'*E. coli* (A.2.3.1) (absente chez les cyanobactéries et le chloroplaste) dont l'un des rôles est d'influer sur l'orientation des protofilaments de FtsZ pour former un anneau. De plus, le fait que ZipN soit une protéine membranaire interagissant avec FtsZ suggère qu'elle pourrait participer à l'ancrage de l'anneau Z à la membrane.

Au cours de ma thèse, j'ai montré que la protéine ZipN est au cœur du complexe de cytokinèse de *Synechocystis*. En effet, celle-ci fait le lien entre les protéines cytoplasmiques (FtsZ, SepF, Ftn6) et les protéines membranaires (FtsQ, FtsI, FtsW) du complexe de division.

L'homologue de ZipN chez les plantes, la protéine Arc6, présente également une localisation en anneau au milieu des chloroplastes. Elle est essentielle à la morphogénèse et à l'assemblage de l'anneau Z du chloroplaste (Vitha, et al., 2003). Arc6 n'interagit qu'avec la protéine FtsZ-1 (Maple, et al., 2005). Les auteurs ont également montré que le domaine C-terminal de la protéine FtsZ-1 (chloroplaste) est nécessaire à l'interaction avec Arc6. Ce domaine de FtsZ est très bien conservé dans l'ensemble des bactéries (cyanobactéries comprises) et il est impliqué dans de nombreuses interactions (FtsA, SepF, ZapA – A.2). Il est donc probable que ZipN interagit également avec la partie C-terminale de FtsZ chez les cyanobactéries.

En 2008, Glynn et collaborateurs ont montré que Arc6 coordonne la machinerie de division du chloroplaste en faisant le lien entre les protéines présentes à l'intérieur de la membrane plasmique et celles présentes à l'extérieur (Glynn, et al., 2008).

Ces résultats montrent que l'appareil de division cellulaire cyanobactérien a été en partie conservé lors de l'évolution qui a suivi l'endosymbiose de la cyanobactérie ancestrale à l'origine du chloroplaste et que, notamment, le rôle de coordination de la protéine ZipN reste globalement identique.

B.3.3 Le système Min

Les protéines MinCDE sont présentes chez *Synechocystis* et les cyanobactéries (Mazouni, et al., 2004; Miyagishima, et al., 2005; Sakr, et al., 2006b); et elles contrôlent le positionnement et les structures de FtsZ. Comme chez *E. coli*, l'ensemble du « cluster » n'est pas essentiel à la viabilité de *Synechocystis* et le mutant $\Delta minCDE$ présente des aberrations morphologiques de type « minicellules ». En revanche, on peut observer de nombreuses cellules en spirales qui sont spécifiques du mutant de *Synechocystis* (Mazouni, et al., 2004).

La délétion du gène *minE* chez *Synechococcus elongatus* PCC7942 (cylindrique) provoque, comme chez *E. coli*, une filamentation des cellules (Miyagishima, et al., 2005) alors qu'elle déclenche des divisions asymétriques et un léger grossissement des cellules chez *Synechocystis* (Mazouni, et al., 2004).

Les protéines impliquées dans la détermination du site de division semblent conservées entre *E. coli* et les cyanobactéries mais il existe des différences notables dans les mécanismes mis en place entre les formes sphériques (*Synechocystis*) et cylindriques (*Synechococcus elongatus* PCC7942 et *E. coli*). Chez *Synechocystis*, MinCDE auraient donc également un rôle de régulation de la polymérisation de FtsZ afin que celui-ci ne forme pas de spirales. Actuellement, nous ne savons pas comment se comporte la cyanobactérie cylindrique *Synechococcus elongatus* PCC7942 en réponse à l'absence de l'intégralité de l'opéron *minCDE*.

La protéine MinC a été surproduite chez *Anabaena* PCC7120 (Sakr, et al., 2006b); le mutant résultant possède des cellules plus grosses et arrondies ainsi que certaines ayant des morphologies en « trèfles » indiquant que, dans ces cellules, le plan de division est potentiellement dérégulé (chez *Anabaena*, les septations sont normalement parallèles les unes

aux autres). Ces données montrent que le système Min peut également être impliqué dans la régulation de l'alternance des plans de cytokinèse.

Les protéines MinE et MinD sont présentes chez les plantes et jouent également un rôle très important dans le positionnement du complexe de division du chloroplaste (Colletti, et al., 2000; Itoh, et al., 2001). En revanche, MinC n'est pas conservée. Un autre facteur, MCD1, participe à cette régulation (Nakanishi, et al., 2009). Le fonctionnement précis du système de détermination du site de division du chloroplaste demeure encore incompris.

Par ailleurs, il serait intéressant d'étudier précisément les mutants du système Min chez *S. aureus* (gram positive) et *N. gonorrhoeae* (gram négative), deux bactéries sphériques qui alternent leur plan de division. Ceci permettrait de savoir, si cette morphologie est responsable de ces différences d'observation.

B.3.4 La protéine Ftn6

À l'exception des protéines FtsZ, ZipN et MinCDE, très peu de choses sont connues sur la cytokinèse des cyanobactéries. Koksharova et collaborateurs, ont montré que la délétion d'un gène nommé *ftn6*, non essentiel, faisait filamenter *Synechococcus* PCC7942 et provoquait d'importants problèmes morphologiques chez *Anabaena* PCC7120 (Koksharova and Wolk, 2002). Les fonctions et les partenaires de la protéine Ftn6 sont inconnus.

II. Résultats

Article 1 :

**Characterization of the *Synechocystis* PCC6803
Penicillin-binding proteins and cytokinetic proteins
FtsQ and FtsW, and their network of interactions
with ZipN
(Marbouty, et al., 2009)**

**Caractérisation des PBPs de *Synechocystis* PCC6803,
des facteurs cytokinétiques FtsQ, FtsW et de leurs
interactions avec la protéine ZipN.**

Objectifs du travail

Les protéines membranaires appelées "penicillin-binding proteins", ou PBPs, sont responsables des dernières étapes de la synthèse du peptidoglycane, le composant majeur de la paroi bactérienne (I.A.3.2). Elles interviennent, en outre, dans son remodelage et son recyclage. Chez *E. coli* et *B. subtilis*, les PBPs sont impliquées dans un certain nombre de processus cellulaires comme la cytokinèse, la morphogénèse ou encore la différenciation cellulaire (I.A.3.2). Le génome de *Synechocystis* code pour 3 protéines apparentées aux PBPs de classe A (PBP1/PBP2/PBP3), une apparentée aux PBP de classe B (PBP4) et 4 apparentées aux PBPs de classe C (2 de Type 4 – PBP5/PBP8 et 2 de Type AmpH – PBP6/PBP7) (Leganes, et al., 2005) ; mais leur différent rôle biologique demeure inconnu. Nous avons donc étudié le rôle des différentes classes de PBPs afin de comprendre leur rôle dans la cytokinèse et/ou la morphogénèse de *Synechocystis*.

Un des objectifs de notre étude était de tester si les PBPs d'une même classe sont équivalentes d'un point de vue biologique. Du fait de la possible redondance fonctionnelle d'une classe donnée de PBPs, nous avons construit divers mutants et analysé leurs phénotypes. Les constructions des mutants d'inactivation ont été réalisées en substituant indépendamment (simples mutants) ou successivement (mutants multiples) la phase codante des gènes ciblés par un gène marqueur de résistance à un antibiotique. *Synechocystis* possède environ dix copies de son chromosome (Labarre, et al., 1989) et la transformation ne permet la substitution que d'une copie sauvage du gène ciblé. Les autres copies sauvages sont ségréguées en exerçant une pression de sélection avec l'antibiotique correspondant. Nous avons ensuite déterminé par PCR si cette ségrégation était complète (gène non essentiel) ou incomplète (gène essentiel).

Ceci nous a permis de montrer que *Synechocystis* était incapable de survivre si l'on inactive deux des protéines d'une même classe (A, C type 4 ou C type AmpH). En outre, nous avons montré que parmi les PBPs de classe A, PBP2 n'était pas équivalente aux deux autres (PBP1 et PBP3). En effet, l'absence totale de PBP2 entraîne une diminution de la taille des cellules tandis que l'inactivation de PBP1 ou PBP3 n'entraîne aucun défaut morphologique. De plus, nous avons également montré que les différents types de PBPs de classe C semblent intervenir dans des processus différents. PBP5 et PBP8 (type 4) semblent jouer un rôle dans le

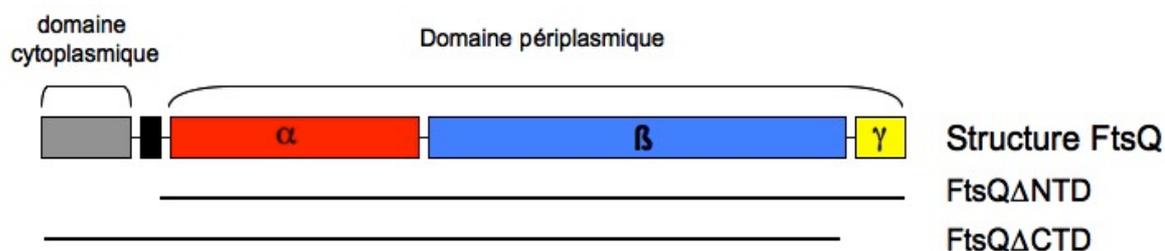
processus de séparation des cellules filles après septation ; tandis que PBP6 et PBP7 (type AmpH) interviennent dans le maintien de la taille des cellules.

Synechocystis est l'une des seules bactéries qui ne possède qu'une seule PBP de classe B (PBP4). PBP4 présente une forte homologie avec la protéine FtsI d'*E. coli* qui fait partie intégrante du complexe de cytokinèse (I.A.3.2.2). Nous souhaitons donc comprendre l'importance de cette protéine ainsi que son impact sur la morphologie et la Cytokinèse. Nous avons, ainsi, montré que PBP4/FtsI est essentielle à la viabilité cellulaire et que son inactivation entraîne l'apparition d'une grande proportion de cellules géantes (30%) ainsi qu'un important retard de croissance dû à un ralentissement de la division cellulaire. Afin de mieux comprendre le rôle de PBP4/FtsI dans la division de *Synechocystis* ; nous avons également analysé les mutants inactivés des facteurs homologues aux partenaires de FtsI chez *E. coli*, FtsQ et FtsW. En accord avec les résultats obtenus pour *ftsI*, les gènes *ftsQ* et *ftsW* sont essentiels et leur inactivation provoque un grossissement des cellules ainsi qu'un retard de croissance.

Afin de décrire les connexions entre les acteurs de la synthèse du peptidoglycane (PBPs) et les facteurs cytokinétiques ; nous avons recherché les interactions potentielles entre les différentes PBPs et les facteurs cytokinétiques FtsQ, FtsW et ZipN. ZipN, précédemment caractérisé au laboratoire (Mazouni, et al., 2004), est un partenaire crucial de FtsZ et qui est spécifique des cyanobactéries et des plantes. Cette étude nous a permis de décrire le premier réseau d'interaction entre facteurs cytokinétiques cyanobactériens ainsi que de mettre en évidence des connexions moléculaires entre les PBPs de classe A et les protéines FtsQ et FtsI/PBP4. De plus, les différentes interactions décrites (ZipN-FtsQ & ZipN-FtsI), nous laisse penser que ZipN pourrait jouer un rôle similaire à la protéine FtsA de *E. coli* et *B. subtilis* (I.A.2.2.1), absente chez les cyanobactéries et les plantes.

Figures complémentaires à l'article

1)



2)

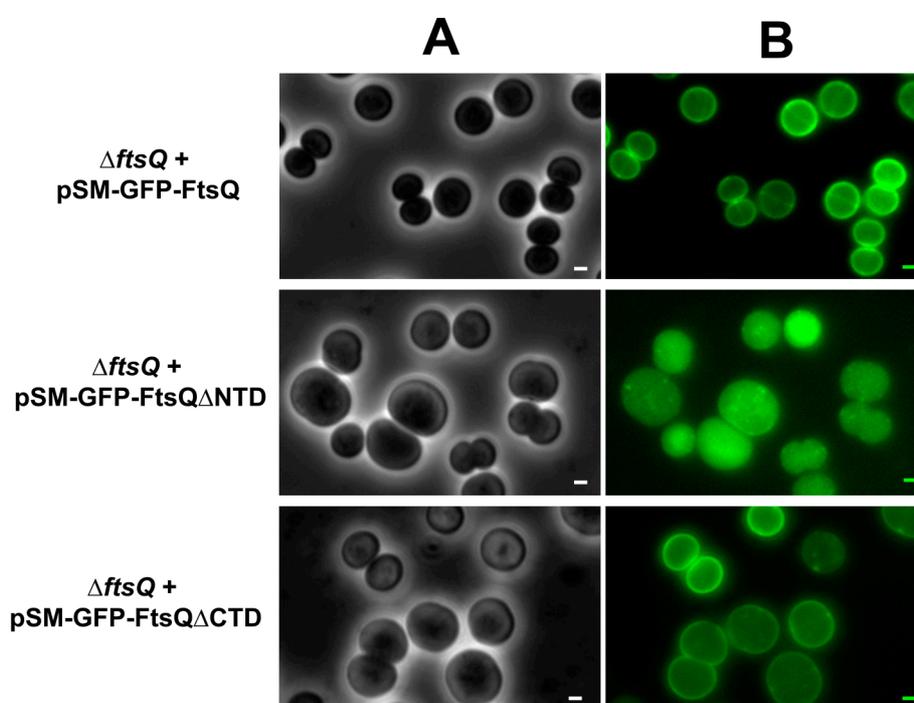


Figure.C1 : Les domaines N et C-terminaux de FtsQ sont essentiels à la fonction de la protéine. Le domaine N-terminal est nécessaire à sa localisation.

1) Représentation schématique de la protéine FtsQ et des formes tronquées de la protéine construites.

2) Localisation de la protéine GFP-FtsQ et des formes tronquées de la protéine.

A – Photos en microscopie optique (objectif 100x).

B – Images en microscopie à fluorescence (objectif 100x).

Echelle : 1 μ m.

Article 2

Characterization of the FtsZ-interacting septal proteins SepF and ZipS in the spherical celled cyanobacterium *Synechocystis* PCC6803

Caractérisation des facteurs cytokinétiques SepF, ZipS et de leur influence sur l'anneau de FtsZ chez la cyanobactérie sphérique *Synechocystis* PCC6803

Objectifs du travail

Chez les deux organismes modèles, *E. coli* et *B. subtilis*, l'assemblage de l'anneau Z met en jeu au minimum dix facteurs. Ils sont généralement impliqués soit dans la régulation de la polymérisation de FtsZ (EzrA, ZipA, ZapA, SepF, FtsA), soit dans le positionnement de l'anneau Z résultant, au milieu de la cellule (Noc/SlmA, MinCDE, DivIVA) (voire les deux) (I.A.1) (I.A.2). Ces processus sont mal connus chez les cyanobactéries, en dépit de la caractérisation récente au labo du système Min et de la protéine ZipN qui interviennent dans le positionnement de l'anneau Z au septum (à mi-cellule) (Mazouni, et al., 2004). En outre, la séquence de génomes cyanobactériens prédit l'existence d'autres facteurs pouvant intervenir dans l'assemblage ou le positionnement de l'anneau Z. Parmi ceux-ci, je me suis intéressé à l'homologue de la protéine SepF de *B. subtilis* qui stimule la polymérisation de FtsZ (I.A.2.2.3). Par ailleurs, Koksharova et collaborateurs, ont montré que la protéine Ftn6 intervient dans la division cellulaire des cyanobactéries *S. elongatus* et *Anabaena* PCC7120 (Koksharova and Wolk, 2002). En effet, l'absence de cette protéine provoque une filamentation des deux organismes mais son rôle exact durant la cytokinèse demeure indéterminé. Nous nous sommes donc intéressés à ce facteur afin de comprendre son rôle au cours de la cytokinèse de *Synechocystis*.

Dans le but mieux comprendre la machinerie de cytokinèse de *Synechocystis*, nous avons réalisé une analyse fonctionnelle des protéines SepF et Ftn6 ; en combinant des techniques in vivo et in vitro. Nous avons, ainsi, montré que SepF et Ftn6 (renommée ZipS pour « Z I n t e r g e t e d e d e S e p t u m) sont essentielles pour la viabilité et la division cellulaire et que leur absence provoque un grossissement des cellules. De plus, elles présentent, toutes les deux, une localisation septale. En accord, avec cette observation, SepF et ZipS interagissent avec FtsZ, in vitro. Enfin, SepF, mais pas ZipS, stimule et/ou stabilise la formation des polymères de FtsZ. Ces données suggèrent que ZipS agit en aval de la protéine SepF dans ce processus.

Article 3

ZipN, a FtsA-like orchestrator of the divisome of the spherical-celled cyanobacterium *Synechocystis*

PCC6803

ZipN, le coordinateur de type FtsA-like du divisome de la cyanobactérie sphérique *Synechocystis*

PCC6803

Objectifs du travail

ZipN est une protéine membranaire spécifique des cyanobactéries et des plantes (Arc6) dont la diminution d'abondance engendre d'importantes aberrations morphologiques (I.B.3.2). Ainsi, chez *Synechocystis*, l'inactivation du gène *zipN* entraîne l'apparition de cellules ayant une morphologie en spirale. Dans ces cellules, les polymères de FtsZ sont profondément désorganisés et présente des agencements en hélice. Ces données montrent l'importance de ZipN dans le positionnement et l'assemblage du complexe de cytokinèse de *Synechocystis*. En outre, il a été montré au laboratoire que ZipN interagit avec FtsZ et présente une localisation septale (Mazouni, et al., 2004).

L'homologue de ZipN chez les plantes, la protéine Arc6, est également cruciale pour la division du chloroplaste. Récemment, il a été montré que Arc6 coordonne la machinerie de division du chloroplaste en faisant le lien entre les protéines présentes à l'intérieur de la membrane plasmique et celles présentes à l'extérieur (Maple, et al., 2005).

Les cyanobactéries sont dépourvues d'homologues des protéines FtsA et ZapA/EzrA qui chez *E. coli* et *B. subtilis*, interagissent avec FtsZ et seraient responsables du recrutement de plusieurs protéines au septum (FtsK, FtsQ, FtsI, FtsW) ainsi que de l'ancrage de l'anneau Z à la membrane I.A.2. Les données que nous avons obtenues sur la protéine ZipN (Marbouty, et al., 2009; Mazouni, et al., 2004), nous ont donc laissé penser que celle-ci pouvait être un homologue fonctionnel de ces facteurs et donc présenter de nombreuses interactions avec les différents facteurs cytokinétiques de *Synechocystis*. Nous avons donc réalisé une recherche systématique d'interaction, à l'aide d'un système double-hybride, de la protéine ZipN avec 24 facteurs véritablement ou potentiellement impliqués dans la cytokinèse de *Synechocystis*. Lorsque c'était possible, nous avons également confirmé ces interactions par co-immunoprécipitation.

Cette analyse met en évidence un rôle central de la protéine ZipN qui fait le lien entre l'anneau Z et ses partenaires (FtsZ, SepF, ZipS) et les facteurs membranaires du divisome (FtsQ, FtsI et FtsW) (Marbouty, et al., 2009). Nous avons également mis en évidence une interaction de la protéine YlmD avec ZipN, FtsQ et FtsI ; ainsi que de Cdv3, une protéine apparenté à la superfamille « DivIVA », avec ZipN. L'analyse *in vivo* de Cdv3 montre que c'est une protéine essentielle et que son absence entraîne un grossissement des cellules ainsi

que des défauts de positionnement de l'anneau Z. En revanche, YlmD n'est essentielle ni à la viabilité cellulaire ni à la morphologie de *Synechocystis*.

Bien que les autres protéines que nous avons testées en double hybride ne présentent pas d'interactions avec ZipN, nous avons également analysé le phénotype consécutif à leur absence (13 délétions). Aucune de ces protéines n'est essentielle à la viabilité et à la morphologie de *Synechocystis*. Il est donc intéressant de noter que la grande majorité (7/8) des partenaires de la protéine ZipN est constituée de facteurs cruciaux pour la survie et la morphologie de notre modèle.

Nous avons ensuite réalisé une analyse structure – fonction des interactions de ZipN. Cette étude montre que le domaine III de ZipN est essentiel à son interaction avec les facteurs SepF, ZipS, et FtsQ.

Article 4

FND, a novel DnaD-like conserved domain in the cyanobacterial cell division factor Ftn6 with potential involvement in chromosome segregation

FND, un nouveau domaine DnaD-like conservé chez le facteur cytokinétique Ftn6 potentiellement impliqué dans la ségrégation des chromosomes

Objectif du travail

L'analyse fonctionnelle de la protéine Ftn6 (ZipS) de *Synechocystis* nous a permis de montrer qu'elle est essentielle à la croissance et la division des cellules (cf article 2). Ftn6 est recrutée au septum, où s'assemble l'anneau Z, probablement *via* une interaction physique avec FtsZ. Par ailleurs, d'autres études, réalisées chez les cyanobactéries *Synechococcus* PC7942 et *Anabeana* 7120, ont montré que la délétion de Ftn6 entraîne un phénotype filamenteux des cellules, très probablement consécutif à une inhibition de l'assemblage de l'anneau Z. De notre côté, nous avons montré que la surproduction de Ftn6 entraîne l'apparition de cellules ayant une morphologie en cœur, indiquant l'importance de Ftn6 au cours de la cytokinèse de *Synechocystis*, notamment dans le processus de constriction. Toutefois, Ftn6 n'influe pas sur la polymérisation de FtsZ *in vitro* et la fonction exacte de Ftn6 dans la division cellulaire demeure, par conséquent, obscure.

Nous avons alors utilisé une approche complémentaire consistant à rechercher des facteurs homologues à Ftn6 et dont la fonction est connue. Cette étude nous a permis de montrer que Ftn6 possède une unique partie conservée, localisée à l'extrémité N-terminale de la protéine (FND : Ftn6 N-Terminal Domain). Celle-ci possède des similarités de séquence et de structure avec le domaine DnaD, présent dans des facteurs d'initiation de la réplication du génome de bactéries à faible pourcentage G+C (phylum des firmicutes dont fait partie *B. subtilis*). Ces observations suggèrent que le domaine FND de Ftn6 pourrait fonctionner comme un module d'interaction à l'ADN et constituer, ainsi, un lien, encore inconnu à ce jour, entre la réplication de l'ADN et la division cellulaire des cyanobactéries.

Résultats Supplémentaires

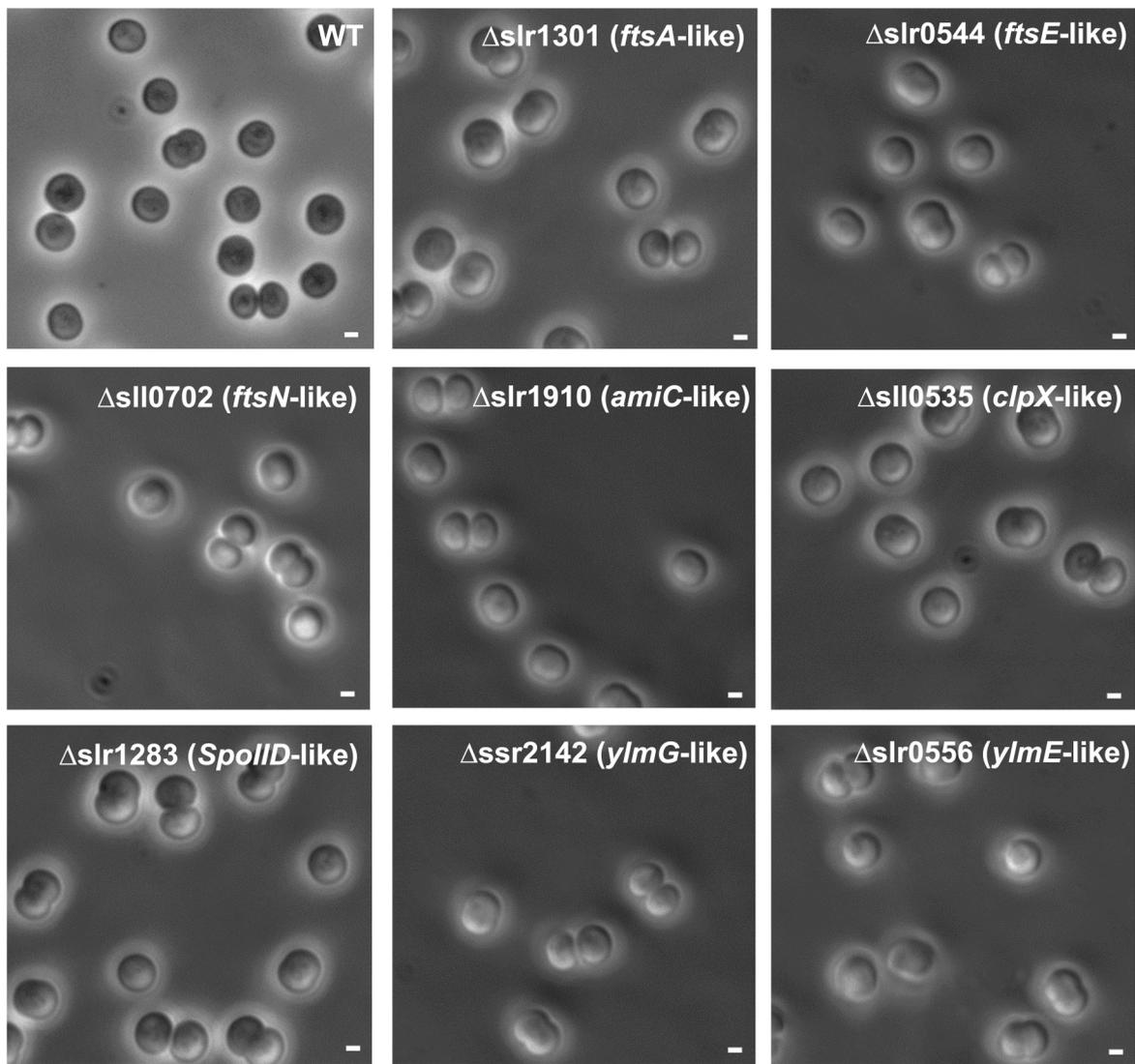


Figure 33 : Photos en microscopie (objectif 100x) de la souche sauvage et de différents mutants contruits au cours de ma thèse

pKT25	vide	ZipN	FtsI (sl1833)	FtsQ (sl1632)	FtsE (slr0544)	FtsW (slr1167)	YlmE (slr0556)	DivIVA (slr0848)	Ftn6 (sl1939)	YlmG-1 (ssr2142)	YlmG-2 (ssl0353)	SpoIID-1 (sl1283)	SpoIID-2 (slr0191)	AmiC-1 (slr1910)	AmiC-2 (slr1744)	AmiC-3 (slr0891)	FtsN (sl10702)	YlmD (slr1593)	ClpX (sl10535)	PBP1 (sl10002)	PBP2 (slr1710)	PBP3 (slr1434)	PBP5 (slr0646)	PBP6 (sl1167)	PBP7 (slr1924)	PBP8 (slr0804)
pUT18m1	vide																									
	vide																									
	ZipN ()																									
	FtsI (sl1833)																									
	FtsQ (sl1632)																									
	FtsE (slr0544)																									
	FtsW (slr1167)																									
	SepF (slr2073)																									
	YlmE (slr0556)																									
	DivIVA (slr0848)																									
	Ftn6 (sl1939)																									
	YlmG-1 (ssr2142)																									
	YlmG-2 (ssl0353)																									
	SpoIID-1 (sl1283)																									
	SpoIID-2 (slr0191)																									
	AmiC-1 (slr1910)																									
	AmiC-2 (slr1744)																									
	AmiC-3 (slr0891)																									
	FtsN (sl10702)																									
	YlmD (slr1593)																									
	ClpX (sl10535)																									
	PBP1 (sl10002)																									
	PBP2 (slr1710)																									
	PBP3 (slr1434)																									
	PBP5 (slr0646)																									
	PBP6 (sl1167)																									
	PBP7 (slr1924)																									
	PBP8 (slr0804)																									

Tableau 1 : Résultats du crible double-hybride réalisé durant ma thèse

Les interactions positives et négatives sont indiquées en bleu et en jaune, respectivement.

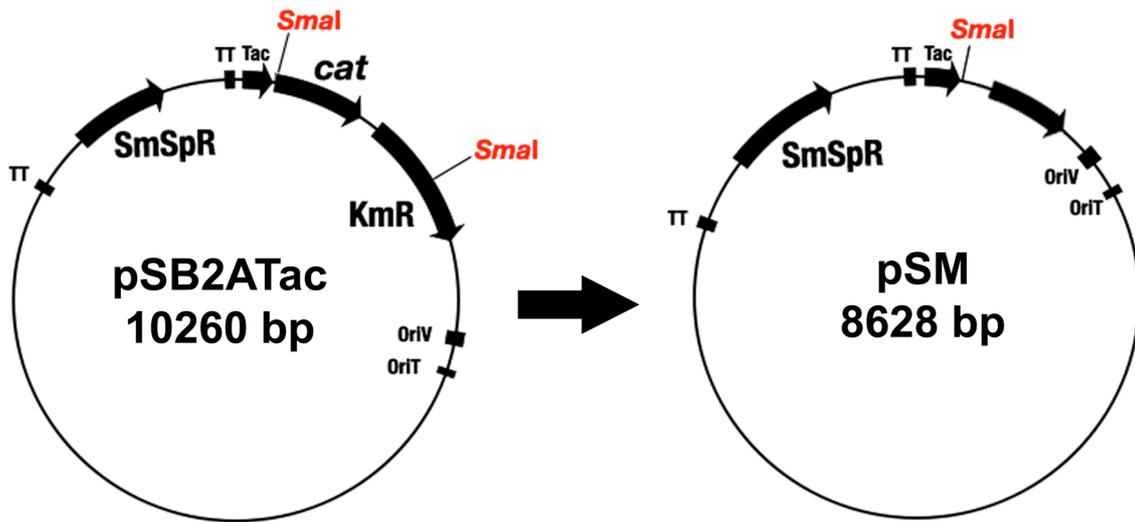


Figure 34 : Représentation du plasmide pSM et de sa construction à partir du pSB2ATac (digestion *SmaI* et religation)

III.

Discussion &

Perspectives

La division cellulaire est un processus fondamental des organismes vivants qui a principalement été étudié chez les deux bactéries cylindriques *E. coli* et *B. subtilis*. Chez les cyanobactéries unicellulaires les mieux caractérisées, *Synechocystis* PCC6803 et *Synechococcus elongatus*, la cytokinèse demeure mal connue. Ainsi, seul un petit nombre de facteurs ont été identifiés (FtsZ, ZipN, Ftn6, MinCDE) chez ces organismes et peu de choses sont connues sur leurs fonctions moléculaires respectives dans la cytokinèse (Koksharova and Wolk, 2002; Mazouni, et al., 2004; Miyagishima, et al., 2005). Les protéines ZipN et MinCDE ont été caractérisées au laboratoire précédemment à mon arrivée ; et mon travail s'inscrivait donc dans la continuité de cette étude.

Chez les bactéries unicellulaires hétérotrophes *E. coli* et *B. subtilis*, la machinerie de morphogénèse et de cytokinèse est complexe, et comporte au moins 10 protéines (I.A). Par comparaison, le nombre de protéines cytokinétiques connues chez les cyanobactéries est plus réduit. C'est pourquoi nous avons imaginé qu'il en restait plusieurs à découvrir.

L'objectif de ce travail était donc, dans un premier temps, d'identifier les composants de la machinerie cytokinétique de la cyanobactérie sphérique *Synechocystis* PCC6803, par une approche de recherche d'homologues de l'ensemble des facteurs précédemment décrits chez *E. coli* et *B. subtilis*. Dans un deuxième temps, nous avons réalisé une étude fonctionnelle de ces protéines : (i) construction et analyse phénotypique de mutants dépourvus (en totalité ou en partie) d'un ou plusieurs facteurs; (ii) recherche d'interactions protéine-protéine entre ces nouveaux facteurs et ceux caractérisés auparavant (FtsZ, ZipN) ; (iii) localisation subcellulaire du produit de ces gènes ; et (iv) influence de l'absence (totale ou partielle) de ces nouveaux facteurs cytokinétiques sur la localisation des polymères de FtsZ. L'ensemble de notre étude nous a permis de caractériser 14 facteurs cytokinétiques cyanobactériens et d'établir un réseau d'interaction entre eux.

Au cours de cette discussion, je commencerai par aborder les questions autour des différences entre une cyanobactérie sphérique, *Synechocystis*, et une cylindrique, *S. elongatus*. Je discuterai ensuite du rôle des différents facteurs cytokinétiques de *Synechocystis* que j'ai mis en évidence au cours de ma thèse : (i) les partenaires de FtsZ (SepF, ZipS/Ftn6), (ii) les facteurs Cdv3 et YlmD, (iii) le rôle des protéines FtsQ, FtsI, FtsW ainsi que (iv) des PBPs dans la cytokinèse et la morphogénèse ; (v) je finirai par discuter du rôle central de la protéine ZipN dans l'organisation du complexe de division de *Synechocystis*.

Enfin, je proposerai le premier modèle du divisome d'une cyanobactérie, puis je le comparerai à nos connaissances sur l'appareil de division du chloroplaste.

A. Analyse comparative de la cytokinèse des cyanobactéries *Synechocystis* (sphérique) et *S. elongatus* (cylindrique)

A.1. La formation de l'anneau Z

La protéine FtsZ est présente chez l'ensemble des cyanobactéries dont le génome est séquencé. Chez *Synechocystis*, ce facteur a été caractérisé au laboratoire avant mon arrivée (Mazouni, et al., 2004). Comme chez *E. coli* et *B. subtilis*, il est essentiel à la viabilité cellulaire et est capable de polymériser en un anneau au milieu de la cellule. Ceci a également été démontré par la suite chez la cyanobactérie cylindrique *Synechococcus elongatus* (Miyagishima, et al., 2005). En revanche, contrairement aux observations faites chez les organismes cylindriques (*E. coli*, *B. subtilis*, *S. elongatus*) (Figure 35 & Figure 36), nous avons montré que les anneaux de FtsZ des cellules filles étaient orientés perpendiculairement à l'anneau de la cellule mère (Mazouni, et al., 2004) (Figure 35). Ces données démontrent que *Synechocystis* se divise en alternant ces plans de divisions. Nos observations de cellules en « trèfles à quatre feuilles » confirment ces résultats (Article 1) (Figure 35 & Figure 36B)

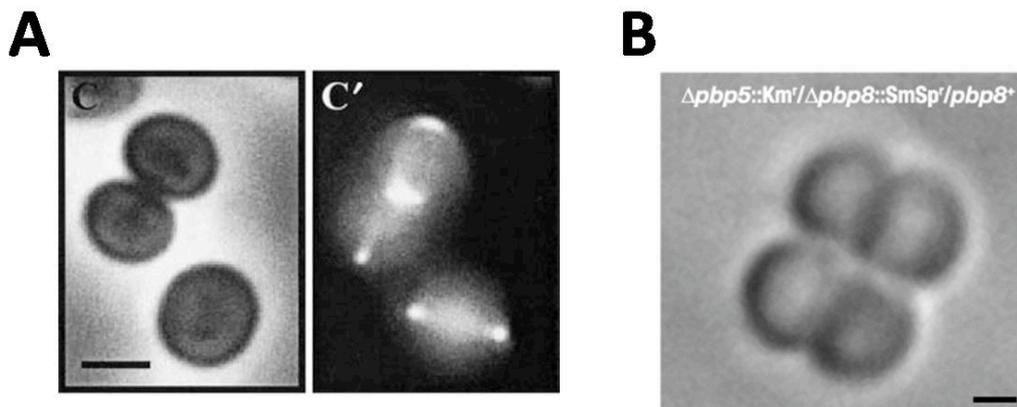


Figure 35 : Photos en microscopie illustrant les enchaînements de plans de division de *Synechocystis*.

(A) Photo en microscopie électronique d'une souche exprimant la protéine FtsZ-GFP (Mazouni, et al., 2004).

(B) Photo en microscopie optique d'une souche mutante ($\Delta pbp5\Delta pbp8$) présentant une morphologie de trèfle à quatre feuilles (Article 1).

Différentes études montrent que la polymérisation de FtsZ, chez de nombreuses bactéries, commencerait à partir d'un point de « nucléation » à la membrane puis par progression bidirectionnelle sous forme d'arc pour ensuite former l'anneau septal (Addinall and Lutkenhaus, 1996; Begg and Donachie, 1998; Sato, et al., 2009; Sun and Margolin, 1998). Ainsi, chez *Synechocystis*, chaque nouvel anneau Z pourrait prendre naissance au niveau de la constriction de l'ancien anneau (Figure 36B).

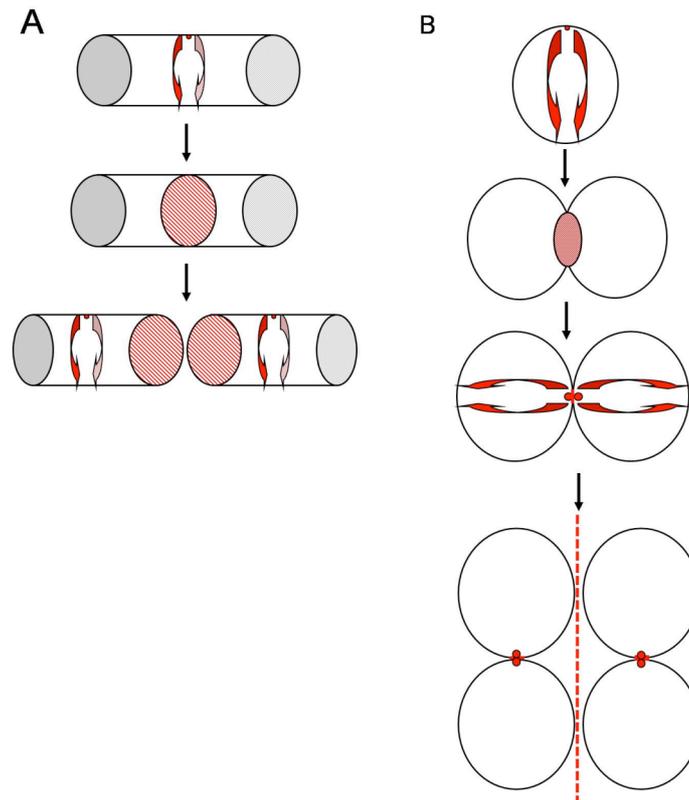


Figure 36 : Représentation schématique de l'enchaînement des divisions entre deux cyanobactéries de morphologie différentes : *S. elongatus*, cylindrique (A) et *Synechocystis*, sphérique (B)

Les points rouges représentent le site de « nucléation » de FtsZ qui serait le point de départ de la progression de manière bidirectionnelle de la polymérisation de FtsZ (flèches rouges). Les disques rouges représentent les complexes de cytokinèse formés et permettant la constriction et la formation du septum.

Par conséquent, à la différence de la cyanobactérie cylindrique *S. elongatus* (Figure 36A), il ne serait plus nécessaire de déterminer le site de polymérisation (celui-ci étant déterminé par l'ancien) chez *Synechocystis*. En revanche, il deviendrait nécessaire d'imposer un plan de polymérisation strict à la protéine FtsZ afin de former un anneau et donc de définir un plan septal de division au milieu de la cellule. Il demeure également la question de l'anneau Z ancestral (le premier) pour lequel nous n'avons pas de réponse pour le moment.

A.2. Le système Min

La grande différence de comportement entre les cyanobactéries sphériques et cylindriques est illustrée par les phénotypes observés lors de la délétion du gène *minE* chez *Synechocystis* (Mazouni, et al., 2004) et *S. elongatus* (Miyagishima, et al., 2005) (Figure 37). En effet, chez *S. elongatus*, cette délétion entraîne la filamentation de la bactérie comme c'est le cas chez *E. coli* (de Boer, et al., 1988). En revanche, chez *Synechocystis*, le mutant $\Delta minE$ ne présente pas de défauts majeurs de cytokinèse à l'exception d'une certaine asymétrie de positionnement du septum (Figure 37). Ceci indique, d'ailleurs, que MinE joue, tout de même, un rôle sur le positionnement de l'anneau Z.

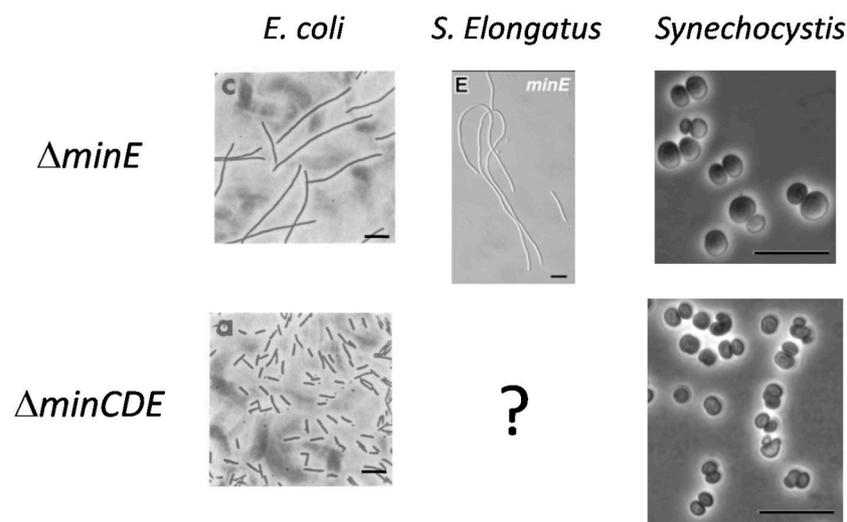


Figure 37 : Phénotypes des mutants du système Min des bactéries *E. coli* (de Boer, et al., 1988), *S. elongatus* (Miyagishima, et al., 2005) et *Synechocystis* (Mazouni, et al., 2004).

Echelle = 10 μ M

En outre, la délétion de l'ensemble de l'opéron *minCDE* provoque l'apparition de cellules présentant des morphologies aberrantes chez *Synechocystis* consécutif à des structures de FtsZ en spirale (Mazouni, et al., 2004) alors qu'elle entraîne l'apparition de septum mal positionné le long du cylindre chez *E. coli* (de Boer, et al., 1988) (Figure 37).

Ces résultats indiquent que chez *Synechocystis*, le rôle du système Min serait également d'empêcher la polymérisation de FtsZ en dehors du plan septal. Il est également possible que la fonction du système Min puisse différer entre les cyanobactéries (sphériques et cylindriques) et les protéobactéries (*E. coli*). Il serait donc important dans l'avenir d'étudier le système Min chez la cyanobactérie cylindrique *S. elongatus*, notamment le phénotype du mutant consécutif à l'inactivation de l'ensemble de l'opéron *min*.

Nous pensons également que les protéines FtsZ des bactéries cylindriques puissent différer dans leur comportement de celles des bactéries sphériques. Ainsi, (i) soit la propriété de ne pas former de spirales est intrinsèque aux protéines FtsZ d'organismes cylindriques ; (ii) soit d'autres facteurs régulent la polymérisation de FtsZ dans un seul plan chez ces organismes.

Du fait de l'appartenance de ces deux espèces aux cyanobactéries, il serait très intéressant d'essayer d'exprimer la protéine FtsZ de *S. elongatus* chez *Synechocystis* (et réciproquement) pour apporter des éclaircissements à cette question.

A.3. La morphologie

Une des grandes différences entre *S. elongatus* et *Synechocystis* est leur morphologie (cylindrique contre sphérique) ainsi que la propriété d'alternance des plan de division de *Synechocystis*.

Au niveau morphologiques, les études montrent que les cellules cylindriques possèdent des morphogènes (*rodA*, *mreB*) qui sont responsables de la forme des bactéries (I.A.3.5). D'ailleurs, nous avons identifié des homologues des protéines RodA et MreB chez *S. elongatus* alors que nous n'avons pu en détecter chez *Synechocystis*.

De manière très intéressante, des analyses ont mis en évidence des liens entre la morphologie et l'enchaînement des plans de division (Addinall and Lutkenhaus, 1996; Begg

and Donachie, 1998). En effet, des auteurs ont montré que la délétion du gène *rodA* rendait *E. coli* sphérique (I.A.3.5) et que ce mutant alterne alors spontanément ses plans de divisions (Addinall and Lutkenhaus, 1996; Begg and Donachie, 1998).

Dans l'avenir, il serait très intéressant d'essayer d'exprimer les protéines RodA et MreB, de la cyanobactérie cylindrique *S. elongatus*, chez *Synechocystis* afin de voir si cela perturbe ses plans de division. Inversement, si l'on inactive séparément ou simultanément ces deux facteurs chez *S. elongatus*, les cellules vont-elles devenir sphérique et alterner spontanément leurs plans de division ?

B. Le complexe de cytokinèse de *Synechocystis*

B.1. Les partenaires de FtsZ

Chez *E. coli* et *B. subtilis*, la stabilité des protofilaments de FtsZ semblent cruciale pour l'assemblage de l'anneau Z septal. 4 partenaires de FtsZ ont été décrits dans la littérature comme des activateurs/stabilisateurs de la polymérisation de FtsZ : ZapA, ZipA (trouvé uniquement chez les gamma-protéobactéries), FtsA (une protéine de la famille de l'actine) et SepF (non trouvé chez les gamma-protéobactéries). Au contraire, les régulateurs négatifs (système Min, système Noc, EzrA et SulA) opèrent dans la déstabilisation et le positionnement de l'anneau Z (I.A).

Par conséquent, nous nous sommes intéressés aux homologues de ces facteurs chez *Synechocystis*. Une recherche systématique par BLAST indique que seule la protéine SepF possède un homologue identifiable chez les cyanobactéries (si l'on n'exclue les protéines MinCDE qui ont été étudiées au laboratoire). Nous nous sommes également intéressé à la protéine Ftn6 (renommée ZipS pour « Z Interacting Protein targeted to Septum) du fait de son implication dans la cytokinèse de *S. elongatus* (Koksharova and Wolk, 2002) et nous avons montré qu'elle était un des partenaires de FtsZ.

B.1.1 SepF est un régulateur de la polymérisation de FtsZ chez *Synechocystis*

Chez *B. subtilis*, SepF localise au septum où il interagit avec FtsZ. Cette interaction aurait comme rôle de stimuler et/ou de stabiliser la polymérisation de FtsZ (Singh, et al., 2008). Chez *Synechocystis*, nous avons montré que *sepF* est essentiel à la viabilité cellulaire et que son inactivation entraîne l'apparition de cellules géantes dans la population cellulaire (Article 2). Nous pensons qu'une telle morphologie résulte d'un ralentissement de la cytokinèse alors que la croissance cellulaire (grossissement des cellules) continue (synthèse du peptidoglycane périphérique). A l'inverse, chez les bactéries cylindriques, lorsqu'un tel problème est rencontré, la cellule filamente. Ainsi, le phénotype « cellules géantes » des cellules sphériques, serait la contrepartie de la filamentation des cellules cylindriques.

Par ailleurs, comme son homologue, SepF_{*Synechocystis*} localise au septum, interagit avec FtsZ et est capable de simuler / stabiliser la polymérisation de FtsZ *in vitro* (Article 2). De plus, comme chez *B. subtilis*, la protéine SepF de *Synechocystis*, et des autres cyanobactéries, présentent une hélice amphiphile en N-terminale (cf annexe) lui permettant de s'enchâsser dans la membrane. SepF pourrait donc, également, participer à l'ancrage de l'anneau Z à la membrane (I.A.2). Il est donc très intéressant de voir qu'une protéine comme SepF, régulant la polymérisation de FtsZ, a conservé sa fonction entre un organisme sphérique photo-autotrophe (*Synechocystis*) et un organisme cylindrique hétérotrophe (*B. subtilis*).

Par ailleurs, nous avons mis en évidence que la sur-expression de la protéine FtsZ-GFP chez le mutant $\Delta sepF$ entraînait l'apparition de cellules en spirales dans lesquelles les structures de FtsZ ressemblaient à celle du mutant $\Delta minCDE$ (Article 2). Chez *Synechocystis*, SepF aurait donc un rôle dans l'assemblage de FtsZ dans un plan donné. L'anneau Z étant très probablement le résultat de l'assemblage de plusieurs protofilaments (I.A.2) ; SepF pourrait, par conséquent, participer à la connexion entre plusieurs protofilaments entraînant une augmentation de stabilité mais également une meilleure orientation des polymères de FtsZ afin de former un anneau et non des spirales.

Si l'on compare le nombre de régulateurs identifiés de la polymérisation de FtsZ chez les modèles *E. coli* et *B. subtilis* (FtsA, ZipA, ZapA, EzrA, SepF), il semble évident que d'autres facteurs restent à découvrir chez *Synechocystis*. La protéine ZipN, dont je discuterai la fonction plus tard, fait très probablement partie de ces régulateurs.

B.1.2 ZipS/Ftn6 est impliqué dans la symétrie de la constriction et pourrait constituer un lien entre la réplication des chromosomes et la cytokinèse

La délétion de *zipS/ftn6* entraîne l'apparition de cellules géantes dans la population, démontrant son implication dans la cytokinèse de *Synechocystis*. La protéine ZipS/Ftn6 présente une localisation septale et interagit physiquement avec FtsZ ; mais elle n'a aucun effet sur la polymérisation de FtsZ *in vitro* (Article 2). Ces différentes observations suggèrent que la fonction de ZipS/Ftn6 est requise à une étape postérieure à la formation de l'anneau Z. De plus, la surproduction de la protéine ZipS/Ftn6 entraîne l'apparition de cellules dont la constriction est clairement asymétrique (cellules ayant une morphologie en cœur) (Article 2).

ZipS/Ftn6 pourrait donc être impliquée dans l'activation ou la « symétrisation » de la constriction. Cette hypothèse expliquerait les phénotypes observés en absence et en surabondance de cette protéine (division cellulaire inhibée et constriction asymétrique, respectivement).

Il serait également possible que la surproduction de cette protéine « piège » un ou des facteurs responsables de cette symétrie de la constriction. Par la suite, il serait donc intéressant d'utiliser le système double hybride que nous utilisons au laboratoire pour « screener » une banque d'insert afin de détecter les partenaires de ZipS/Ftn6.

L'étude bioinformatique de la partie N-terminale de ZipS/Ftn6 (Article 4), indique une homologie de séquence et de structure avec le domaine DnaD (PFAM), qui est principalement rencontré dans les facteurs d'initiation de la réplication chez les bactéries du groupe des firmicutes. Chez ces organismes, le domaine DnaD fait office de module de liaison à l'ADN. Par conséquent, Ftn6/ZipS pourrait être impliqué dans la réplication de l'ADN. Toutefois, les mutants délétés ne produisent pas de cellules anucléées (Miyagishima, et al., 2005) (nos données. En outre la partie de DnaD interagissant avec DnaA n'est pas conservée chez ZipS/Ftn6, ce qui va plutôt à l'encontre de cette hypothèse.

ZipS/Ftn6 pourrait, alors, être impliqué dans les connexions entre la division cellulaire et la réplication des chromosomes. Deux processus décrits chez *E. coli*, présentent des connexions entre ces deux phénomènes : (i) le système Noc dont le rôle est d'empêcher la formation du complexe de cytokinèse au niveau du nucleoïde (I.A.1.1) ; et (ii) la protéine

FtsK dont un des rôles est de coupler la constriction septale à la fin de la phase de ségrégation des chromosomes (I.A.3.3.3).

(i) Lors de notre analyse bioinformatique du génome de *Synechocystis*, nous n'avons détecté aucun homologue des acteurs du système Noc d'*E. coli* et *B. subtilis* (I.A.1.1). Il est donc envisageable que *Synechocystis* possède un autre effecteur du système Noc qui ne soit ni l'homologue de la protéine Noc (*B. subtilis*) ni de la protéine SlmA (*E. coli*) (I.A.1.1). Bien que sa localisation septale ne conforte pas cette hypothèse, ZipS/Ftn6 pourrait, tout de même faire parti des effecteurs du système de « Nucleoid occlusion » chez *Synechocystis*. Cette protéine pourrait, par exemple, inhiber la constriction de l'anneau Z tant que la ségrégation des chromosomes n'est pas achevée ; ou inversement, activer la constriction dès la fin de la ségrégation des chromosomes.

(ii) Nous n'avons détecté aucun homologue de la protéine FtsK chez *Synechocystis* et la plupart des autres cyanobactéries. Lorsque nous avons identifié un homologue, comme c'est le cas chez *Anabaena* PCC7120, l'étude de la conservation de séquence suggère un transfert horizontal récent (nos données). En revanche, des homologues des partenaires de FtsK, XerC et XerD (I.A.3.3.3), sont clairement identifiables chez l'ensemble des cyanobactéries. Il semblerait donc que ce processus soit conservé chez *Synechocystis*. Il est donc envisageable que la protéine ZipS/Ftn6 puisse compenser, dans une certaine mesure, l'absence de la protéine FtsK chez *Synechocystis*. Comme nous chez *Synechocystis*, Koksharova et collaborateurs ont récemment proposé que ZipS/Ftn6 puisse être impliqué dans la ségrégation des chromosomes chez *S. elongatus* (Koksharova, et al., 2007). Il serait donc intéressant de tester la possible interaction entre ZipS/Ftn6 et les facteurs XerC/XerD.

Comment ZipS/Ftn6 est fonctionnellement connecté à la division cellulaire demeure inconnue et, par la suite, de plus amples analyses seront nécessaires pour comprendre le rôle exact de ce facteur chez les cyanobactéries. L'identification des partenaires de ZipS/Ftn6 pourrait répondre en partie à cette question (Co-immunoprécipitation ou test double-hybride contre une banque). Il serait également intéressant de tester la possible liaison de ZipS/Ftn6 à l'ADN.

B.2. Cdv3 est une nouvelle protéine cytokinétique

Nous avons détecté une interaction de ZipN avec le facteur essentiel Cdv3 (Article 3). Ce facteur a été mis en évidence chez *S. elongatus* où son inactivation fait filamenter la cyanobactérie indiquant un rôle dans la cytokinèse (Miyagishima, et al., 2005). L'analyse de la séquence de Cdv3 indique qu'elle posséderait un domaine de type « coiled-coil » (programme du site NPS@ - cf annexe) et qu'elle appartiendrait à la super famille des protéines de type DivIVA-like (PFAM). Cette catégorie de protéines regroupe des facteurs impliqués, notamment chez les bactéries gram-positives, dans le positionnement de l'anneau Z (DivIVA, *B. subtilis*) (I.A.1.2.2), les étapes tardives de la cytokinèse (YpsB, *B. subtilis*) (Tavares, et al., 2008), la maturation des pôles (WAG31, mycobactéries) (Kang, et al., 2008), ou encore la ségrégation des chromosomes (DivIVA, streptocoques) (Vicente and Garcia-Ovalle, 2007).

Cdv3 ne présente pas de similarités significatives avec ces protéines précédemment caractérisées, et constituerait donc un nouveau facteur cytokinétique.

L'inactivation de Cdv3 entraîne, chez *Synechocystis*, un élargissement conséquent des cellules qui demeurent sphériques, compatible avec une implication dans la cytokinèse (Article 3). Afin de tester la possible influence de Cdv3 sur les structures de FtsZ, nous avons introduit dans le mutant $\Delta cdv3$ le plasmide exprimant la protéine FtsZ-GFP (Article 3). Dans cette souche, un grand nombre de cellules (20%) présentent des structures de FtsZ aberrantes et, par conséquent, des morphologies anormales (spirales, trèfles à trois feuilles, excroissance cellulaire) résultant de septations asymétriques ou incomplètes. L'ensemble de nos données sur le facteur Cdv3 indique que son absence entraîne un retard de cytokinèse générant ainsi des cellules géantes. Toutefois, chez ce mutant, la formation de l'anneau Z n'est pas inhibée. Nos observations de cellules aux morphologies aberrantes du mutant $\Delta cdv3$ exprimant la protéine FtsZ-GFP résultent très probablement d'une abondance plus importante de protéines FtsZ couplée à l'absence de Cdv3.

Ces données indiquent que Cdv3 pourrait être impliquée dans la régulation de la formation de l'anneau Z. Elle pourrait, comme la protéine DivIVA de *B. subtilis*, être responsable du positionnement de l'anneau Z au milieu de la cellule. Toutefois, nous n'avons identifié, chez *Synechocystis*, aucun homologue de la protéine MinJ de *B. subtilis* qui fait le lien entre les facteurs MinCD et DivIVA (I.A.1.2.2). De plus, nous n'avons détecté aucune

interaction entre Cdv3 et les protéines MinCD de *Synechocystis*. Ces résultats semblent réfuter cette hypothèse.

Cdv3 pourrait alors être impliqué dans la régulation de la polymérisation de FtsZ afin que celui-ci forme un anneau au niveau du plan septal médian. Cdv3 pourrait également participer à l'inhibition de la formation de plus d'un anneau de FtsZ à partir du point de nucléation résultant de l'anneau précédent. Cette hypothèse est en accord avec l'observation des cellules avec une morphologie de trèfle à trois feuilles (Figure 38).

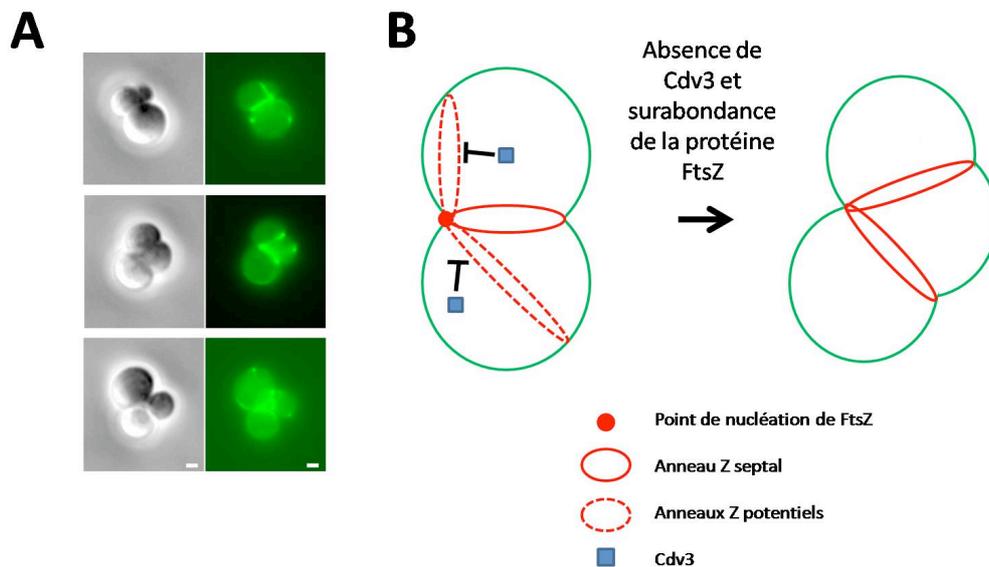


Figure 38 : Phénotypes fréquemment observés chez le mutant $\Delta cdv3$ + pSZ-GFP (A) et proposition d'un modèle pour le rôle de la protéine Cdv3 (B)

B.3. YlmD pourrait être un lien entre le complexe de cytokinèse et la membrane externe

Nos tests double-hybride ont mis en évidence l'interaction d'une protéine homologue au facteur YlmD de *B. subtilis* avec ZipN, FtsQ et FtsI (Article 3). Le gène *ylmD* de *B. subtilis* fait partie d'un cluster de gène (le *dcw* cluster – division and cell wall cluster) regroupant notamment les gènes *divIVA* et *sepf* (*ylmF*). YlmD n'est pas essentiel et son absence ne provoque aucuns défauts de cytokinèse chez *B. subtilis* comme chez *Synechocystis* (Article 3).

La recherche de domaine conservé chez cette protéine indique qu'elle appartient à la super-famille des protéines de type EAL (PFAM) qui interviendrait dans la transduction de signal pour la régulation de protéines présentes à la surface des cellules et aux fonctions diverse (adhésion, biofilm ...). Il existerait donc des connexions entre la cytokinèse et les protéines présentes à la surface de la membrane externe. Il est notamment possible qu'YlmD soit impliqué dans le processus de morphogénèse. Toutefois, dans ce cas, il est étonnant de ne détecter aucun phénotype chez le mutant déplété ; sauf s'il existe une certaine redondance fonctionnelle avec d'autres facteurs. Il est également probable que la protéine YlmD ne soit pas essentielle dans les conditions très favorables du laboratoire.

L'interaction d'YlmD avec ZipN, FtsQ et FtsI, indique tout de même que cette protéine serait impliqué d'une manière ou d'une autre dans la cytokinèse et/ou la morphogénèse. Il pourrait être intéressant de construire un double mutant $\Delta ylmD/\Delta ftsQ$ ou $\Delta ylmD/\Delta ftsI$ et voir si cela peut aggraver le phénotype des simples mutants $\Delta ftsQ$ et $\Delta ftsI$.

B.4. Les facteurs FtsQ, FtsI et FtsW sont impliqués dans la synthèse du peptidoglycane septal

Nous avons détecté des homologues des facteurs FtsQ, FtsI et FtsW de *E. coli* et *B. subtilis*, chez *Synechocystis* (Article 1). L'ensemble des données disponibles sur ces trois protéines, chez *E. coli* et *B. subtilis* (I.A.3.3) indique qu'elles sont principalement impliquées dans la synthèse du peptidoglycane septal. Chez *E. coli*, les mutants délétés de ces facteurs présentent un phénotype filamenteux caractéristique des gènes de cytokinèse.

En accord avec ces données, l'inactivation chez *Synechocystis* d'un de ces trois facteurs, entraîne l'apparition de cellules géantes indiquant un rôle dans la cytokinèse de notre modèle

(Article 1). En revanche, la surabondance de la protéine FtsZ (expression de la protéine FtsZ-GFP) chez les trois simples mutants n'entraîne pas d'autres défauts que le grossissement des cellules (cellules en spirales ou en cœur par exemple) (nos données). Ces observations indiquent que ces trois protéines ne seraient pas impliquées dans l'agencement de l'anneau Z mais bien dans la synthèse du peptidoglycane septal et dans le processus de septation.

Nos tests double-hybride indiquent une interaction de FtsI avec FtsQ et FtsW comme chez *E. coli* (I.A.3.3). En revanche aucune interaction de FtsQ avec FtsW n'a pu être mise en évidence. Toutefois, Karimova et collaborateurs, qui ont utilisé le même test double hybride chez *E. coli*, n'ont également pas détecté d'interaction entre ces deux facteurs (Karimova, et al., 2005) ; alors que d'autres équipes l'ont détecté en utilisant un autre système (D'Ulisse, et al., 2007). Il est donc possible que le système double hybride que nous avons utilisé ne permette pas de mettre en évidence cette interaction spécifique.

Désormais, la question sera de savoir si le recrutement de ces trois facteurs au septum se fait de manière séquentielle comme chez *E. coli* ou plutôt de manière concertée comme c'est le cas chez *B. subtilis* (I.A.3.3.1). Pour répondre à cette question, il sera nécessaire de construire des fusions de ces protéines à la GFP et de voir si l'absence d'une, empêche la localisation d'une autre.

Nous avons commencé ce travail en réalisant la fusion de la protéine FtsQ à la GFP (Article 1 – Figure C1). L'expression de cette protéine chimérique chez *Synechocystis* indique une localisation septale mais également à l'ensemble de la membrane de ce facteur. Cette localisation membranaire est très intéressante car elle pourrait indiquer un autre rôle biologique de FtsQ notamment au niveau de la croissance cellulaire de *Synechocystis*. Wadsworth et collaborateurs, ont également observé une localisation membranaire de DivIB (FtsQ) chez *B. subtilis* (Wadsworth, et al., 2008). Néanmoins, aucune information n'est disponible sur le rôle physiologique d'une telle localisation.

Toutefois, nous ne pouvons pas exclure le fait que la surabondance de la protéine GFP-FtsQ chez *Synechocystis* entraîne une localisation de celle-ci à toute la membrane de manière artefactuel. En effet, nous avons utilisé un promoteur fort pour exprimer le gène *gfp-ftsQ* or nous ne savons pas à quel niveau s'exprime habituellement le gène *ftsQ* endogène.

Il serait intéressant de voir si l'inhibition de la fonction de FtsI par un antibiotique spécifique de cette protéine (aztreonam ou cephalexine) empêche la localisation de FtsQ au septum.

Nous avons construit deux mutants de la protéine GFP-FtsQ afin d'analyser leur localisation (Article 1 – Figure C1) : un dont le segment transmembranaire était absent et un dont le domaine γ était délété (I.A.3.3.4).

La protéine GFP-FtsQ Δ NTD ne localise plus à la membrane ni au septum indiquant que le fragment transmembranaire est nécessaire à sa localisation. Des expériences menées chez *B. subtilis* ont montré que le fragment transmembranaire de FtsQ est nécessaire à sa localisation mais que celui ci peut être remplacé par un fragment d'une autre protéine (Wadsworth, et al., 2008). Il est donc probable que cela soit également le cas pour la protéine FtsQ de *Synechocystis*.

Concernant la protéine GFP-FtsQ Δ CTD ; celle ci localise bien à la membrane et au septum mais elle n'est plus capable de compléter le phénotype du mutant Δ *ftsQ* (Article 1 – Figure C1). Ce résultat démontre que le domaine C-terminal de la protéine n'est pas essentiel pour sa localisation. En revanche, la partie C-terminale de FtsQ semble nécessaire pour assurer une cytokinèse normale.

Ainsi, nous avons montré que, de manière similaire à *E. coli* et *B. subtilis* (I.A.3.3) les protéines FtsQ, FtsI et FtsW font partie intégrante du complexe de septation de *Synechocystis* et qu'elles sont cruciales pour achever une cytokinèse normale. Par ailleurs, ces protéines possèdent un homologue chez l'ensemble des cyanobactéries dont le génome est séquencé. Il est donc très probable qu'elles soient essentielles pour la cytokinèse de toutes les cyanobactéries.

B.5. Rôle des PBPs dans la cytokinèse et la morphologie de *Synechocystis*

B.5.1 Les PBPs de classe A et B

La synthèse du peptidoglycane nécessiterait la participation d'au moins une PBP de classe A et une PBP de classe B (Sauvage, et al., 2008) (I.A.3.2). Nous avons montré que PBP4 (FtsI – article 1), la seule PBP de classe B identifiée chez *Synechocystis* était impliquée dans la synthèse du peptidoglycane septale. En effet, son inactivation entraîne un grossissement des cellules ainsi qu'un allongement de la phase de division dû à un défaut de

cytokinèse. Parallèlement, nous avons montré que FtsQ et FtsI interagissent avec deux PBPs de classe A, PBP1 et PBP3, suggérant que ces deux dernières sont également impliquées dans la synthèse du peptidoglycane septal. Il existe très probablement une redondance de fonction entre PBP1 et PBP3, comme le suggère l'absence de phénotype associé à la délétion de l'une ou l'autre de ces deux protéines et la létalité du double mutant PBP1/PBP3 de *Synechocystis* (Article 1).

Chez les organismes cylindriques, la synthèse du peptidoglycane dans la partie cylindrique de la bactérie est assurée par un complexe multiprotéique regroupant notamment les protéines de type « Mre », une PBP de classe B et au moins une PBP de classe A (I.A.3.5). En revanche, chez les bactéries sphériques comme *S. aureus*, la néo-synthèse du peptidoglycane impliqué dans l'élargissement de la cellule semble avoir lieu en même temps que la septation et uniquement au niveau du site de division (Scheffers and Pinho, 2005).

De manière très intéressante, nous avons montré que l'absence totale d'une PBP de classe A, PBP2, entraînait une nette diminution du diamètre cellulaire (Article 1). Cette observation indique que PBP2 pourrait être impliquée dans la croissance cellulaire de *Synechocystis*.

Ainsi, il existerait chez *Synechocystis* comme chez les organismes cylindriques, deux types de synthèse du peptidoglycane ; l'une septale et l'autre périphérique. Toutefois nous ne savons pas où se déroule cette synthèse pour le moment. Je n'ai pas eu le temps de réaliser la fusion de PBP2 à la GFP ; et il sera donc intéressant de déterminer la localisation subcellulaire de PBP2 qui pourrait nous renseigner sur le site de synthèse du peptidoglycane périphérique.

Il paraît également évident que d'autres facteurs participent à ce processus puisque l'absence totale de synthèse de peptidoglycane périphérique devrait normalement être létale. Nous avons montré que PBP2 interagit avec PBP1 et PBP3 (Article 1) et il est donc possible que ces deux dernières puissent, également, participer à la synthèse du peptidoglycane périphérique ou compenser en partie l'absence de PBP2.

Par ailleurs, la synthèse du peptidoglycane impliquerait une PBP de classe A et une PBP de classe B (Sauvage, et al., 2008). PBP4 (FtsI) est l'unique protéine de la classe B chez *Synechocystis* ; il est donc envisageable qu'elle participe également à la synthèse du peptidoglycane périphérique. Des antibiotiques spécifiques de FtsI, inhibant sa fonction PBP (aztreonam ou cephalexine), sont actuellement disponibles. Il pourrait donc être intéressant de soumettre *Synechocystis* à un tel traitement afin de savoir si les deux processus sont inhibés (périphérique et septal).

Nos différentes données indiquent que la synthèse du peptidoglycane périphérique (croissance cellulaire) est partiellement déconnectée de celle du peptidoglycane septale puisque l'inhibition de la division cellulaire n'empêche pas les cellules de continuer à croître. En outre, chez *S. aureus*, le traitement avec un inhibiteur de la polymérisation de FtsZ (le PC190723) (Haydon, et al., 2008) provoque un grossissement cellulaire indiquant donc que, chez cet organisme, la croissance cellulaire est indépendante de la formation de l'anneau de FtsZ et donc de l'assemblage de la machinerie de synthèse du peptidoglycane septal.

Il serait donc intéressant de tester également cela chez *Synechocystis* afin de déterminer si la synthèse du peptidoglycane périphérique est indépendante ou non de la formation de l'anneau de FtsZ. Plusieurs molécules bloquant la polymérisation de FtsZ sont désormais disponibles et pourraient permettre de tester cela.

B.5.2 Les PBPs de classe C

B.5.2.1. Les PBPs de type endopeptidase

Chez *Synechocystis*, l'inactivation simultanée (mais partielle) des deux PBPs de classe C de type endopeptidase, PBP5 et PBP8, entraîne l'apparition d'une sous-population de cellules (25%) présentant une configuration intéressante rappelant un trèfle à quatre feuilles (Article 1) (Figure 35). *Synechocystis* se divise en alternant perpendiculairement ses plans de division (Mazouni, et al., 2004). La disposition particulière des cellules chez ces mutants, en « trèfles à quatre feuilles », pourraient résulter d'un défaut de septation des cellules filles qui ne s'effectuerait pas complètement chez le mutant. Les PBPs de classe C de type endopeptidase pourraient, par conséquent, être impliquées dans les remaniements du peptidoglycane synthétisé entre les deux cellules filles au cours de la fermeture du septum (Figure 39). Une telle hypothèse a déjà été envisagée chez *E. coli* (Holtje, 1995; Priyadarshini, et al., 2006). Toutefois, chez cet organisme, l'activité endopeptidase n'est pas essentielle à la survie dans les conditions de laboratoire (Duez, et al., 2001; Stefanova, et al., 2003) et les mutants ne présentent aucun phénotype sauf si des autolysines (non PBPs, type AmiC) sont inactivés en même temps (I.A.3.4).

Les cyanobactéries sont les seuls organismes connus possédant deux LMW PBPs de type 4 (Sauvage, et al., 2008). Ce constat pourrait s'expliquer du fait de la sévérité du phénotype

observé pour le double mutant de ces gènes chez *Synechocystis*. De plus, un cylindre, tel que *E. coli*, peut continuer à croître « indéfiniment » sous forme de chaîne alors que, concernant *Synechocystis*, l'étape « quatre cellules en trèfles » est limitante. Cette observation pourrait expliquer le fait que les PBPs de type endopeptidase soient essentielles à la viabilité de *Synechocystis*. Il serait donc très intéressant d'étudier les homologues de ces protéines chez la cyanobactérie cylindrique *S. elongatus* afin de répondre à cette question.

Concernant les autolysines (homologue de la protéine AmiC de *E. coli*) de *Synechocystis*, nous avons détecté plusieurs homologues potentiels de la protéine AmiC d'*E. coli* qui est importante pour la septation de cet organisme (Article 4). Aucun des simples mutants de *Synechocystis* ne présentait de phénotype visible. Nous n'avons pas poussé plus loin cette analyse mais il serait intéressant, par la suite, de réaliser des doubles mutants de ces gènes.

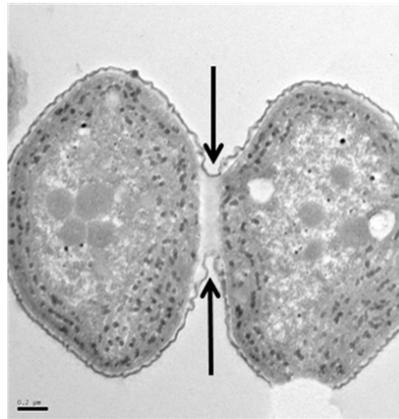


Figure 39 : Photos en microscopie électronique d'une cellule de *Synechocystis* en division

Les flèches noirs représentent l'action supposée des PBPs de type endopeptidase : séparation des deux cellules filles après septation (nos données). Sur la photo, les cellules n'apparaissent pas sphériques mais ceci est probablement dû au traitement préalable nécessaire pour l'utilisation de cette technique d'observation.

B.5.2.2. Les PBPs de type AmpH

PBP6 et PBP7 sont deux LMW PBPs dont les séquences les apparentes à la famille des PBP de classe C de type AmpH. Chez *E. coli*, la délétion des gènes *ampC* ou *ampH* chez un mutant inactivés des gènes *pbp1a* et *pbp5* produit des cellules de morphologie aberrantes (diamètre supérieur, présence d'excroissance cellulaire). Ces protéines sont suspectées d'être

impliquées dans le processus de croissance, maturation et recyclage de la paroi bactérienne (I.A.3.2.3).

Nous avons montré que l'activité portée par ces deux protéines est essentielle à la viabilité de *Synechocystis* (Article 1). Les doubles mutants présentent un phénotype de type « grosses cellules » ainsi qu'une grande hétérogénéité de taille de la population (Article 1). Les cellules en division comme les cellules non entrées en division présentent ce phénotype de grossissement cellulaire, suggérant que ces PBPs ne sont pas impliquées directement dans la division cellulaire de *Synechocystis* mais plutôt dans sa morphogénèse. En effet, les inactivations de gènes de cytokinèse (*sepF*, *ftsQ*...) entraînent un grossissement des cellules affectant essentiellement les cellules en division (Article 1).

Il est difficile d'attribuer une fonction précise à ces deux protéines, mais leurs activités ont une influence cruciale sur la morphologie de *Synechocystis*, notamment sur le maintien de son diamètre cellulaire. Nous pensons donc qu'elles jouent un rôle sur le recyclage du peptidoglycane et la régulation de la synthèse du peptidoglycane.

B.6. ZipN est le coordinateur central du complexe de cytokinèse de *Synechocystis*

ZipN, spécifique des cyanobactéries et des plantes, est une protéine essentielle du complexe de cytokinèse de *Synechocystis* (Mazouni, et al., 2004). Elle se localise au septum probablement par interaction directe avec FtsZ (Mazouni, et al., 2004). La délétion du gène *zipN* entraîne l'apparition de cellules avec des morphologies aberrantes en spirales ; indiquant son rôle crucial au cours de la division cellulaire. Le phénotype de ce mutant présente de nombreuses similarités avec le mutant $\Delta minCD$ (Mazouni, et al., 2004). Ainsi, ZipN jouerait également un rôle important sur la bonne conformation de l'anneau Z afin que celui-ci ne polymérise pas en spirale. Toutefois, les mécanismes sous-jacents à cette régulation sont encore inconnus. Il est possible que ZipN, de la même manière que la protéine ZapA d'*E. coli* (I.A.2.2.2) réalise des connexions entre les protofilaments de FtsZ permettant ainsi d'influencer l'orientation prise par les polymères de FtsZ afin d'aboutir à la formation d'un anneau. En outre, ZipN est une protéine membranaire et pourrait, comme SepF, participer à l'ancrage de l'anneau Z à la membrane (I.A.2).

Par ailleurs, la recherche des interactants de ZipN nous a permis de mettre en évidence un rôle central de la protéine dans l'organisation du complexe de cytokinèse de *Synechocystis* (Article 3). Nos résultats montrent que ZipN interagit à la fois avec FtsZ (Mazouni, et al., 2004), mais également les partenaires cytoplasmiques de FtsZ, SepF et ZipS (Article 2) et les protéines membranaires FtsQ et FtsI (article 1). ZipN constituerait donc un lien entre l'anneau Z et les protéines membranaires responsables de la synthèse de la paroi septale (Figure 40 & Figure 42).

Les génomes cyanobactériens sont dépourvus d'homologue de FtsA qui interagit avec de nombreux facteurs et est responsable du recrutement d'un certains nombres d'entre eux au septum (FtsK, FtsQ, FtsI). ZipN pourrait donc être une contre partie de l'absence de la protéine FtsA chez les cyanobactéries (Figure 42). Le fait que la protéine Arc6, l'homologue de ZipN chez les plantes, soit le facteur faisant le lien entre les protéines présentes à l'intérieur de la membrane plasmique et celles présentes à l'extérieur, renforce cette hypothèse de coordonnateur central (I.B.3.2). Si cette hypothèse est vraie, il est très probable que ZipN soit responsable du recrutement des protéines FtsQ et FtsI au septum.

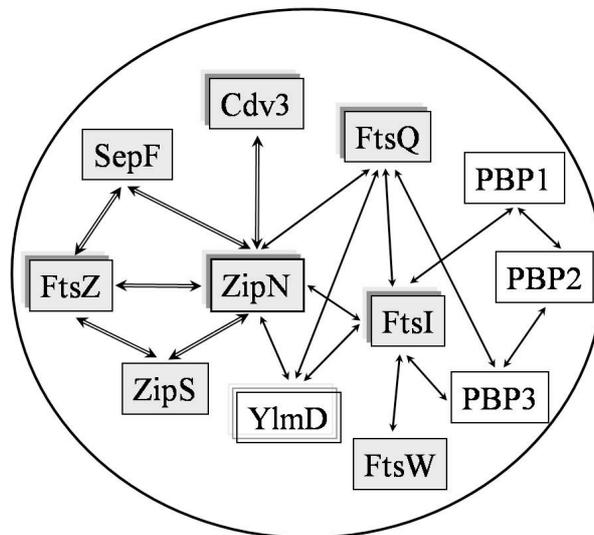


Figure 40: Représentation du rôle central de la protéine ZipN dans le complexe de cytokinèse de *Synechocystis*

Les facteurs dans un rectangle gris sont essentiels à la viabilité cellulaire et à la morphologie de *Synechocystis*, alors que ceux dans un rectangle blanc ne le sont pas. Les flèches noires indiquent que l'interaction a été détectée par des tests double-hybride. Les doubles flèches indiquent que l'interaction a été confirmée *in vitro*. Les rectangles « ombrés » indiquent que le facteur est capable d'auto interagir.

C. Proposition d'un modèle de travail représentatif de l'appareil cytokinétique de *Synechocystis*

Le modèle de cycle de cellulaire de *Synechocystis* que nous proposons est indiqué sur la Figure 41. L'anneau Z semble se former de manière précoce alors qu'aucun allongement cellulaire n'est détecté. C'est une des raisons pour lesquelles il sera crucial de vérifier si la synthèse du peptidoglycane périphérique est indépendante de la formation de l'anneau Z. En outre, nous ne savons pas si l'anneau de FtsZ que nous observons dans les cellules non entrées en division comprend déjà les protéines SepF, ZipS/Ftn6 et ZipN. Il sera nécessaire de réaliser des cinétiques de recrutement des protéines au septum pour répondre à cette question.

On peut alors détecter un certain allongement cellulaire qui traduit une synthèse de peptidoglycane périphérique. Pendant ce temps, le complexe de cytokinèse s'assemble comme le montre la localisation précoce de la protéine GFP-FtsQ (Article 1, figure C1). Une fois cet assemblage effectué, la constriction peut commencer jusqu'à la fermeture du septum. L'étape de fermeture semble concomitante à la formation des deux nouveaux anneaux Z des cellules filles (Figure 41). La séparation des deux cellules filles aurait lieu après cette étape.

Il sera essentiel par la suite de réaliser des cinétiques précise de ce cycle cellulaire ainsi que de connaître également le comportement des chromosomes au cours de ce cycle.

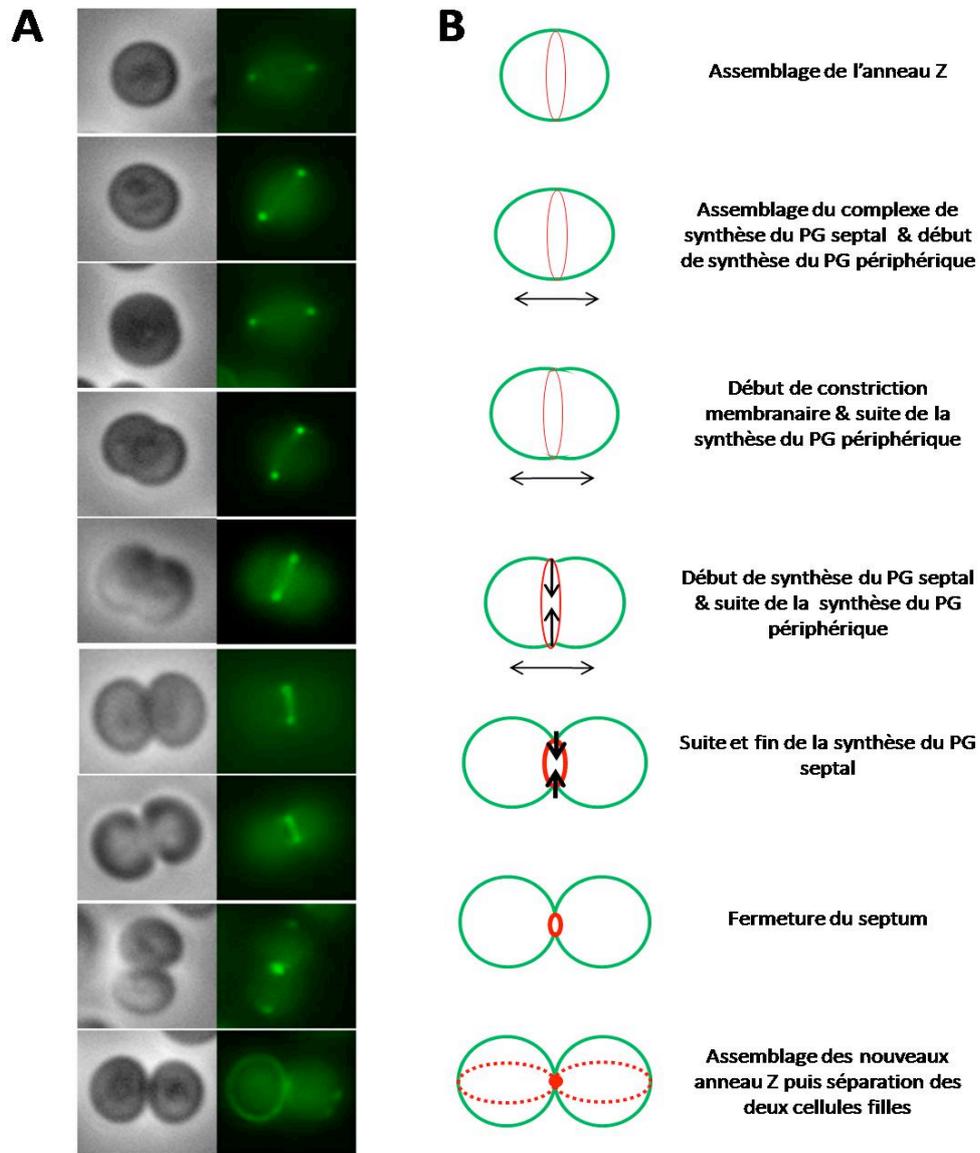


Figure 41 : Représentation du cycle cellulaire de *Synechocystis*.

A : localisation de la protéine FtsZ-GFP au cours de la division de *Synechocystis*. Les images sont des observations de divers types de cellules à des étapes différentes de la cytokinèse.

B : Proposition d'un modèle du cycle cellulaire de *Synechocystis*.

Notre analyse pluridisciplinaire (*in silico*, *in vivo* et *in vitro*), nous a permis de caractériser 14 acteurs de la cytokinèse de *Synechocystis* et de mettre en évidence les interactions entre ces protéines. Notre étude permet d'établir le premier modèle de l'appareil cytokinétique d'une cyanobactérie, *Synechocystis* (Figure 42). Il sera nécessaire, par la suite, de déterminer précisément l'ordre d'arrivée de ces facteurs ainsi que de connaître la hiérarchie de recrutement à l'intérieur de ce complexe.

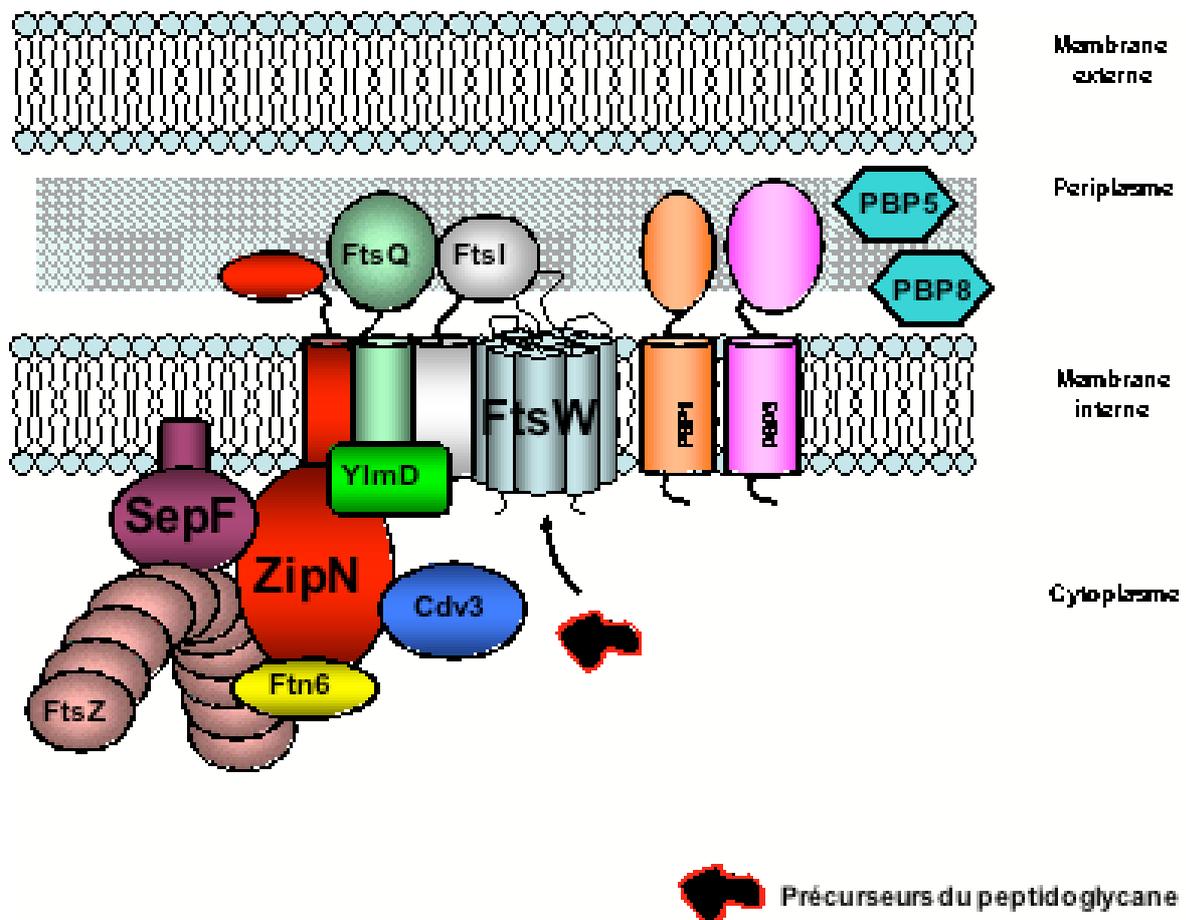


Figure 42 : Modèle du complexe de cytokinèse de *Synechocystis*

D. Comparaison de l'appareil cytokinétique cyanobactérien et chloroplastique

Les cyanobactéries constituent un très bon modèle du chloroplaste dont une cyanobactérie ancestrale serait à l'origine (Gray, 1993). Nous avons donc recherché dans le génome d'*Arabidopsis thaliana*, si les facteurs cytokinétiques que nous avons décrit étaient conservés. A l'exception des protéines FtsZ, ZipN, MinD et MinE ; aucun des acteurs que nous avons décrit au cours de cette étude ne possède d'homologue chez *A. thaliana*. Toutefois, nous n'avons recherché que des homologues des facteurs cytokinétiques des modèles *E. coli* et *B. subtilis* qui sont donc relativement éloignés phylogénétiquement des chloroplastes. Il est fort probable que nous n'ayons pas encore identifié l'ensemble des facteurs cytokinétiques des cyanobactéries ; et que, parmi ces protéines inconnues, certaines soient conservées chez le chloroplaste.

Concernant, la protéine ZipN/Arc6, qui est restreinte aux cyanobactéries et aux plantes ; les études menées chez ces organismes montrent que la fonction globale de coordination de la machinerie de cytokinèse de ce facteur est conservée bien que ses partenaires protéiques soit différent (I.B.3.2) (Article 3).

Les chloroplastes sont des organites se développant à l'intérieur de cellules eucaryotes alors que les cyanobactéries sont en contact direct avec le milieu extérieur. Il paraît donc évident que l'on retrouvera de nombreuses différences entre les machineries de division. En outre, de nombreuses études montrent qu'un certain nombre des facteurs cytokinétiques chloroplastiques dérivent de composants cytosqueletiques de la cellule hôte (Yang, et al., 2008), notamment la dynamine.

La Figure 43 présente un des modèles proposés de l'appareil de cytokinèse du chloroplaste (Yang, et al., 2008). Les protéines PDV1, PDV2, Arc5, MSL2, MSL3, GC1 sont spécifiques des chloroplastes et ne possèdent pas d'homologue identifiable chez les cyanobactéries.

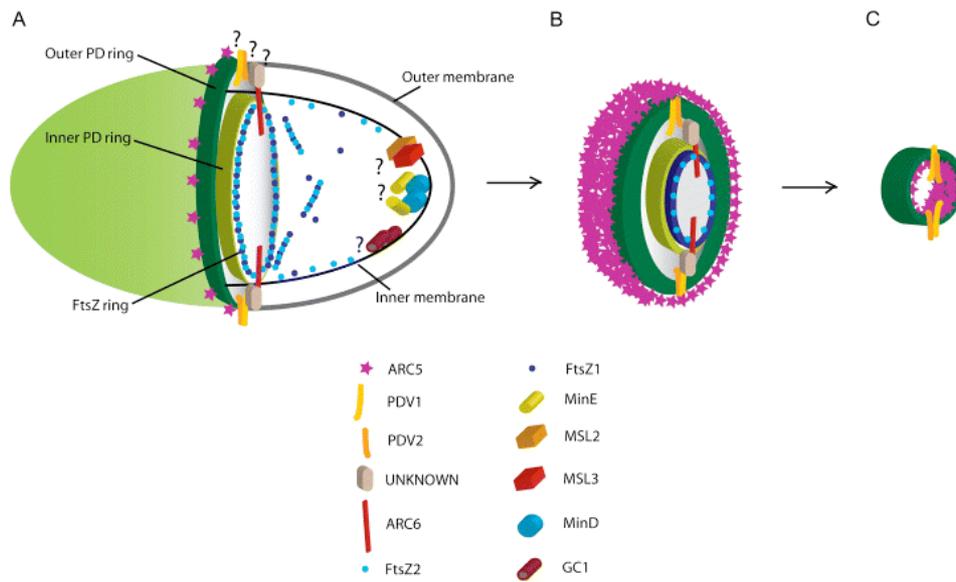


Figure 43 : Modèle du complexe de division du chloroplaste chez *A. thaliana*
(Yang, et al., 2008)

E. Perspectives

Nous n'avons pour le moment trouvé aucun homologue (fonctionnel) des protéines d'*E. coli*, FtsE, FtsX, FtsK, FtsB, FtsL et FtsN chez *Synechocystis*. Par conséquent, il semble probable qu'un certain nombre de facteurs du septosome cyanobactérien restent à identifier. Ces facteurs encore inconnus pourraient, d'ailleurs, être spécifiques des cyanobactéries et avoir des homologues chez les plantes.

Par la suite il serait donc intéressant de réaliser des purifications, *in vivo*, du complexe de cytokinèse de *Synechocystis* afin de découvrir de nouveaux acteurs de la cytokinèse de cet organisme. Il serait également possible de réaliser une banque génomique dans les plasmides du système double-hybride, et de tester cette banque contre les protéines que nous avons décrites.

Il sera également important de caractériser les fonctions moléculaires précises des protéines ZipN, ZipS/Ftn6, Cdv3 et YlmD. Notamment, l'étude de la relation entre la cytokinèse et la ségrégation des chromosomes est un sujet crucial.

Derrière l'investigation de l'assemblage du divisome cyanobactérien ; un des grands enjeux des prochaines années sera de comprendre comment la cytokinèse est connectée aux réseaux métaboliques et aux régulateurs contrôlant la croissance cellulaire. La recherche globale d'interactants des facteurs cytokinétiques permettra d'ouvrir des pistes de recherche dans ce sens.

Nous avons évoqué, tout au long de ce manuscrit, les différences entre les organismes sphériques et cylindriques ainsi que des grandes questions sous-jacentes à ces observations. L'analyse comparative de *Synechocystis* (sphérique) et *S. elongatus* (cylindrique) pourra apporter des éclaircissements à cette question : la forme sphérique est-elle une forme par défaut comme le suggèrent certains mutants sphériques d'*E. coli* ?

Les cyanobactéries sont des organismes ayant un impact énorme sur notre environnement (renouvellement de l'oxygène, production de biomasse pour chaîne alimentaire, potentiel biotechnologique – I.B.1). De plus en plus de polluants (métaux lourds, pesticides ...) sont retrouvés un peu partout sur la planète et pourraient par conséquent interférer avec les

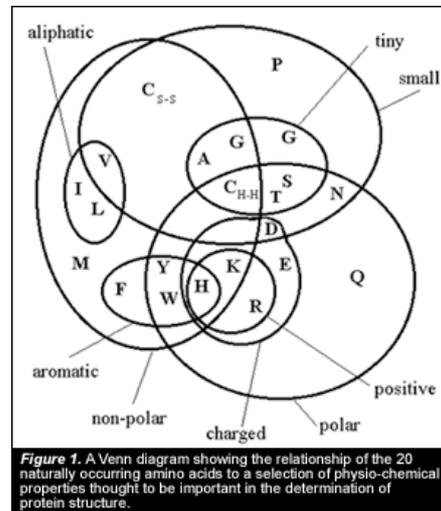
composants responsables de la cytokinèse de ces organismes. La connaissance de ces protéines pourrait permettre de mieux cibler les recherches des effets de ces toxiques.

Par ailleurs, certaines cyanobactéries des genres *Anabaena*, *Aphazinomenon*, *Cylindrospermopsis*, *Microcystis*, *Nodularia*, *Oscillatoria*, *Planktothrix* (Feuillade, 1992) produisent des toxines qui sont dangereuse pour la faune aquatique. Lorsqu'une efflorescence de cyanobactéries a lieu dans un plan d'eau utilisé comme réserve d'eau potable, zone de production halieutique ou de loisirs, il existe un risque sanitaire sérieux. La protéine ZipN, restreinte aux cyanobactéries et aux plantes, pourrait, par conséquent, être une cible intéressante de molécule anti-cyanobactérienne.

IV. Annexe

ALIGNEMENT DES PROTEINES ANALYSEES ET DE LEURS HOMOLOGUES

Les couleurs utilisées pour les alignements découlent du diagramme suivant



Légende

Aa chargés négativement : **D, E**

Aa chargés positivement : **H, K, R**

Aa polaire : **Q, N**

Aa polaire et petit : **S, T**

Aa avec un cycle aromatique et non chargés : **F, Y, W**

Aa non polaire : **V, L, I, M**

Aa non polaire et petit : **A, G**

Cystéine

Proline

Alignement de protéines ZipN cyanobactériennes

- : Domaine 1 (Domaine DnaJ)
- : Domaine II
- : Domaine III
- : Domaine IV
- : Domaine V
- : Fragment transmembranaire

* : aa mutés lors de l'étude des interactions de la protéine ZipN

	DOMAINE DnaJ
Synechococcus elongatus	-----MRIPLDYRILCVGVQASAKLAESYRDRLNQSPSEHFSEIALQARROLL
Synechocystis	-----MFIPLDFYRILGIFPQSGGFTIEQAYQDRLLQOLPRREFSDAAVTLRNOLL
Anabaena variabilis	MLITVQGKYAVRIPLDYRILGLPLAASDEQLRQAYSDRIVQLPRREYSQAALIASRKOLI
Trichodesmium erythraeum	-----MRIPLDYRILGLPQATAEQLRQAHQDRTOQFPREYSSEATIVARKOLI
Microcystis aeruginosa	-----MRIPLDYRILGIFPQVSAEQIDLAHADRGROLPRQEYSQTATIIARQHLL
Cyanothece	-----MRIPLDYRILGIFPQVTEQLRQAYRDRSIQLPRREYSNQAICSRROLL
Acaryochloris marina	-----MRIPLDYRILGVFIQATPEQIEQAEADRCCQLPRQEYSKTAIAARTOLL
Thermosynechococcus elongatus	-----MRIPLDYRILGVFIQATPEQIEQAEADRLLQLPTTQHSPTTVATRFELI
Gloeobacter violaceus	----MDSASSLSLPLSYQILGVFPQCTYEQVEAFADRLAQAPRREFSAAVRSAREHWL
Synechococcus	-----MDLPIHFRLLGVSPSADPASILRRLQTRSDSPDDGFTHEGLLQEQALL
Prochlorococcus marinus	---MPIAAQIVDLPLIDHFRLLGVSPSADSFALIRLELRDRCPDQGFTHVLIQEQALL

Synechococcus elongatus	EAATAELSDDEQRDRYDRRFQGG-----
Synechocystis	AIAYETLRDEKRRQAYDQENWGAMDEA-----
Anabaena variabilis	EEAYVVLSDPKERSYDQLYLAAHAYDP-----
Trichodesmium erythraeum	DEAYAVLQDEQRQTYDGNFLAKTYEPIVEELNPSQINFDAQEKETTLKETREVLPEI
Microcystis aeruginosa	DEAYQVLSAADRBRDYDAQFFGPNPLL-----
Cyanothece	EQAYGVLSNAQKAKYEAQFWQDQASY-----
Acaryochloris marina	QDAHAVLSDSNARTAYD-----
Thermosynechococcus elongatus	EQAYAVLREDEQRDAYDRHRCRTVDP-----
Gloeobacter violaceus	REACTALGDFVRRELYHRE-----
Synechococcus	HRSADLLTDESERADYEAAALLSLS-----
Prochlorococcus marinus	RLSADLLTDEPRRQAYETALLSLS-----

	DOMAINE II
Synechococcus elongatus	-----LEAIEP ^{SLE} LEDWCRIGALLLIL ^{EL} GEYR ^{VS} SQLA ^{EL} ELL
Synechocystis	-----LGEALPLT ^{PE} LECS ^{PE} QELIGALLLIL ^{DL} GEY ^{LV} VK ^Y GE ^{PV} L
Anabaena variabilis	-DNAATTKVAVENRGDSNNGHFDVQ ^{SL} SI ^E ISSE ^{LI} GALLLIL ^{QL} GEY ^{LV} LK ^L GR ^{NY} L
Trichodesmium erythraeum	ASKQLKRTSYQNRETKAASDFHSN ^{PS} IE ^E TEY ^Q EVGAILLIL ^{HE} GEY ^{LV} LKI ^T HP ^{YL}
Microcystis aeruginosa	LNPESSAENLDSQGGAAAAPEYPT ^{PQ} IT ^{HP} AP ^{LV} GALLLIL ^{QL} GEY ^{LV} IR ^L AE ^{TY} L
Cyanothece	QEAGBSPS--PRSATEAVSESSPLT ^{AE} ID ^E PE ^{LT} GSLILL ^{HE} GEY ^{LV} IK ^Y GS ^{YL}
Acaryochloris marina	-----QSILAESAPPD ^{IG} SM ^E LQES ^{QL} VGALLLIL ^{QL} SD ^Y ERT ^{QA} QL ^{GA} E ^{YL}
Thermosynechococcus elongatus	-----DDLIAQLDPDAT ^{PH} IE ^{IS} DE ^{QL} S ^G ALLLIL ^Y EL ^{GN} YA ^{QV} VN ^{LG} DA ^{FL}
Gloeobacter violaceus	-----GKQGLLDSSHAAV ^{GL} FL ^Y EL ^{GE} Y ^{QT} LI ^{BR} OE ^{AL}
Synechococcus	-----ATHPNE ^{TV} GL ^{DL} AASSE ^V AGLILL ^{WE} AG ^{AA} EAF ^{QL} AR ^{QGL}
Prochlorococcus marinus	-----RDHPGE ^T AG ^{LV} SPS ^{RE} VAGLILL ^{FW} ANS ^{PH} W ^{VF} HL ^S Q ^{GL}

Synechococcus elongatus	PDYDASAEVRDQF-----A ^{GG} DI ^{AT} AT ^{ALS} Q ^{QS} LG ^{RE} CR ^Q GL ^Y EQ ^{AA} Q ^H FG ^{RS}
Synechocystis	HDPNPPAGG-----LP ^Q D ^{YL} LS ^{VI} LA ^{HW} EL ^S RER ^W Q ^Q Y ^E FA ^{AT} AS ^{LK} A
Anabaena variabilis	GNQNGTASTRNGNHRTPPEFLDGSE ^{PD} IT ^{TV} VAL ^{AS} EL ^{LG} REQ ^W Q ^{GH} Y ^{EN} AA ^{VS} SE ^{TE} G
Trichodesmium erythraeum	LNN--SITIKDGRFGDPALVL-----PD ^V V ^{IT} VAL ^{AN} EL ^{LG} REQ ^W Q ^Q Y ^{ES} AA ^{TA} LE ^{AG}
Microcystis aeruginosa	DLEPTT-----PD ^M IT ^{TL} AL ^{AY} GE ^{LS} RE ^Y W ^{DK} NY ^{EQ} AA ST AT ^{KA}
Cyanothece	QTLPTSSLSLDIDDTA-----TK ^H ET ^{DT} IL ^{SI} AL ^{AY} LE ^{IS} RE ^Q W ^H Q ^{AY} EP ^{AA} LAG ^{TQ} G
Acaryochloris marina	KRSIDLNRLPANNGS-----ED ^V IL ^{AM} AL ^{AN} LE ^{AG} REC ^W Q ^Q K ^F K ^{AS} DV ^{HO} SG
Thermosynechococcus elongatus	KKDVFERNRPYTS ^{PA} A-----VA ^D IT ^{TV} VAL ^{AY} EL ^{LG} REQ ^W Q ^{RS} Y ^{ES} AA ^S Q ^{LE} AG
Gloeobacter violaceus	AVAD-----QP ^{DT} RE ^V L ^{AL} A ^H Q ^{AL} A ^Q E ^{AY} R ^Q GN ^{LF} A ^{HL} VE ^{EA}
Synechococcus	QPPQAPALGSGR-----EA ^D L ^{TL} LA ^{AL} AC RD AA ^{RE} EQ ^Q RR ^Y ES ^{AA} Q ^L LR ^{DG}
Prochlorococcus marinus	QPPQSP ^{TL} GSER-----EA ^D LA ^{LL} LA ^{LA} CR ^{AA} AA ^{EE} EQ ^Q RR ^Y ES ^{AA} AS ^L HD ^G

DOMAINE III

Synechococcus elongatus QSAIADHQRFFELSRTHQIQGQLRFPYRILRILA-QPLTADSDRQOGLLQLLQAMLDPRQG
 Synechocystis LARLQQDNDFFALAEIIRQLYRLRFPYRILELLA-KEGQGEEQRQOGLLQLLQAMLDPRQG
 Anabaena variabilis QEVLFSEGIFFSVQAEIQADLYKLRFPYRILELLA-LPQEKTIERHQGLDLDLQSIILDRGG
 Trichodesmium erythraeum LGLLRENLNFVQIRGEIQADLYKLRFPYRILELLA-LPEEIALDRSRGLEILQDMLNERGG
 Microcystis aeruginosa LITWLEQEQMFFQVASEIRHPCDRLRFPYRILELLS-QEKKPSLARQKGLNLLQEMLEARRGG
 Cyanothece LITLLEKNNLFFPSIQEIRASLHKLRFPYRILELLA-APLKNTPVPRQTGKILLQSMLEARRQG
 Acaryochloris marina LKLLTQEQLFHAVQREIFLDIYKLRFPYRILELLA-EPEENLTKRQOQFSLQIMLDRGG
 Thermosynechococcus elongatus LQVLRQVNLFFELQEQFOTELNRLRFPYRILELLA-LPLSDSANRQKGLILLRQMLSERGG
 Gloeobacter violaceus LEILLRGGDCLKPVQQLQOTLTKBWRERILQLLAGAADPPSPQRQKGMALLAALLAREEG
 Synechococcus IELQQRMGKLEHDAQRLQQLDLDLFPYRVLDLLS-RDLSADADARQOQGISLLQLVLDPRGG
 Prochlorococcus marinus IQLLQRIGKLSSECLKLEKLDLVDLFPYRILDLLS-RDLGDQVSHQKGLRLLLNQVSRGG

* * * *

Synechococcus elongatus IEG---PDDGSGSLTLDNFIMFLQQRIGYLTLAEQQLFESERARFSPASAFACVTLIA
 Synechocystis IEG---KGEFYSGLQNDDFLRFIHLRCHLTVAEQNALFLPESQRPSLVAAYLAVHSLMA
 Anabaena variabilis IDG---TGNLQSGSLNIDDFLRFIQLRHHLTVAEQKHLFDGSKRPSAVATYLAAYSTA
 Trichodesmium erythraeum IDG---QGDPSGSLGIEDFLKFVQQLRQYLTAEQKLFVFAALRPSAVGAYLAVYTFLA
 Microcystis aeruginosa IDG---QGDDRSGLVDNFLRFIQQLRVYLTQAEQKRIWAKLAEQKGLNLLQVYALIA
 Cyanothece IDG---KGDHSGSLGIDDFLRFIQQIRTYLTAEQKDFIFIEAQRPSVAAYLVYALIA
 Acaryochloris marina IDG---PQDDLSSGLSVDLFLRFIQQLRCHLTVAEQQLDFIKESERPSAVASYLVYALVA
 Thermosynechococcus elongatus IEG---RGGDRSGLTVEDFLKEILQLRSHLTVAEQQLFERESRPSAVATYLAAYHALVA
 Gloeobacter violaceus IEG---DGNLQSGLSREFFVQFLQYLRRLRTVAEQQLFEREAARFSPAAQYLAQAQLA
 Synechococcus LDPEGLDSFTPAAMQADFESEFFQQRIRFLTVQEQVDFLRGWFAEGSIEACCLAVFALAA
 Prochlorococcus marinus LEG-TVPSPAPAGGLDQSEFDFNFQKIRKFLTVQEQVDFLFRWQAGSADAGFLGGALAA

* * *

Synechococcus elongatus RGFCDHQPSSLTHRASLLLHDLKSR-MDVHTHQAIASLLLGQPEEAEALLVQSQDEETLSQ
 Synechocystis EGVKQEDPMALIVAEARSLIIQIENEC-QDLALEKVIQELLLGQTEVVVLAADIQGDPKIVAGL
 Anabaena variabilis RGFTRQRPALIRHARQMLMRDLSKQ-QDVHLEQSLCALLEGQTEEARVRLVLSQEQYALAL
 Trichodesmium erythraeum QGFAQKQPAFIRKAKMLMLQDGRS-QDVNLEKSVGALLGQTEEASRSLELSHENPLSF
 Microcystis aeruginosa RGFQKQPAATVAAICERLQDQKQK-QDVSLEKSIALLGQTERASTILERSQEQILNY
 Cyanothece QGFAQKQPSLILEAATVLEGLRPR-QDVSIEQSIVALLLGQTEAQAALERCQDQALKF
 Acaryochloris marina KGCSSQKPEFTIQARSAITELADR-QDIQVEKSMYLLGQPGAAIQTLPLSRDQSLF
 Thermosynechococcus elongatus RGVHLLQPSYICRAKDLQLQLPH-QDVYLELASLALLGQTEAALALHSDQDPTLDF
 Gloeobacter violaceus CGFTTQSPQVRRARHGLIKLVQR-QDVNLELAVGALLGQVEEAQKNITERSAEECAVDY
 Synechococcus AGYSRRKPEFLEQAREQLQRIVASDLDMPPLGCLDLLGNVAEASLHFSAIRDELLSW
 Prochlorococcus marinus VGFSSRRKPERVQEARQHLESLELDGFTLPLMLGCLDLLGQVGRQERFLRSTDPKVKDC

*

Synechococcus elongatus IRALAQGE-ALIVGLCRFTITWLTATKVFPDFRDLKIRTAPEIOPYFDLPDVQTYLDAI---
 Synechocystis ESKLATGE-FLPTIFYTFTQWLEEEIVPYFRDLSPEITLSPRAYFNNSVQOYLEQEPD
 Anabaena variabilis IREKQDSDPDLPLGLCLYAEHWLQEVFPDFRDLSEKQASLKDYFANQOVQAYLEALPND
 Trichodesmium erythraeum IKENSQOSPDLPLGLCLYAEHWLQEVFPDFRDLSEKASLKDYFADQHVQAYLEALPTE
 Microcystis aeruginosa IKEQSQSADLLPLGLCRYGFRMLQTEVVFCHESDLVFRKASLKEYFAEEVQYLEALSFG
 Cyanothece IRENSQGAPDLPLGLCRYGFRHWLQTEVFAHFRDLKKTASLKEYFADQDVQTYLNLQLLTP
 Acaryochloris marina IHQYSEGAEQVLPGLFLYTFRMLQEVVYFRDLNNTQLSTQNYFNHEHIQAYLNGAPE
 Thermosynechococcus elongatus IRRHAGEAGRLPLGLYYTITQWLTETIYPAFRDLGTPVALIAYFADANVQTYLEALSSED
 Gloeobacter violaceus IKNLQSDSPDLPLGLCRYTILWLAEVFPDFRDRRSGTYTLKAYFAHPVRAFLDDEPQA
 Synechococcus LAEPHGDH---LAAQCEYCRVWLERDVLPGYRDVDAAGVDLDAWFADRDVQAYVDRDRQ
 Prochlorococcus marinus LDSPHGDH---LAAQCEYCRSMLGGEVLEGYRDVDAEAVDLEAWFADRDVQAYVDRERS

Synechococcus elongatus -----VELPSDLMPTPLFVPELEVRSSLLAK
 Synechocystis S-----FTTDNSFASPALLSTATESETPMVHSSAALPD
 Anabaena variabilis AETTNEWAVINRQSFSPANSYSGGTPVTKRTPGKANRPGDASTRQMPQRSHPSEVNRO
 Trichodesmium erythraeum AEVANQWVVVQ-----PRRNHNKQMFDPKELEKLN-VSDLEDKDIS-RVDAATATGIV
 Microcystis aeruginosa PDEKVPVEVREKA-----SEPLESEVNVLKHTHTPPHNLNPVPGVTPMRES-AYSSSHSRPQ
 Cyanothece S-----PPKPGVMNPEK--NPPSR-SRLHNNRRYPR
 Acaryochloris marina P-----VSPRMPASTTSIDLPLLAQSGSETLGS
 Thermosynechococcus elongatus S-----IAP-EPPATTASALPEVIRP---TVAVP
 Gloeobacter violaceus P-----APAPEPRPARVIASGASSTGI
 Synechococcus S-----ARLGSAAVTGAGLSSAPSADASSPHEAA
 Prochlorococcus marinus E-----NRASSLGKAFAGSSLLKQPPFPWAPLEPDGI

DOMAINE IV

Synechococcus elongatus ELPTPATPGVAPPPRRRRRD-----
 Synechocystis RPLTSTVPSRRGRSPRRSRDDVFPADNSSGLAVTTLSPAIAYDTHSLGTNGIGGDSTSN
 Anabaena variabilis FYQNRTPDPELPETNHRREPSSHTTARENISPTAAYDNYPPEIPVGRASRPVQPGVS
 Trichodesmium erythraeum ASGSQGSNNLLGASDGLLQELEKSSSTRG--GPKQVTTK--SSSHYLGKIREKISISGLP
 Microcystis aeruginosa KPSLARANGERTSTVPALRATAQEETLTPYTQGNVVVTAAYRQPALNPPRRRPSRPRHQ
 Cyanothece YQPLEQGNALDPVSLPVR-----SLSPIDIRVRRRKR-KQYAPKPPDPQPIRETVLE
 Acaryochloris marina REGRLPSQAHRQESKRQRPPGKPPVSAKKVTPLTVPKGLDSPRKRSSMPAATAPAPKAE
 Thermosynechococcus elongatus PPLSFTAETLPLQDQSR LG----QGLSASAFTPSATATGTSMPQ-----PSPRKR
 Gloeobacter violaceus EPGRLLTPVGAEAR-----
 Synechococcus LDDDH-LPAEEAPS DPANQ-----
 Prochlorococcus marinus LPLSLGGPEVGPQAPADPSSD-----

DOMAINE

Synechococcus elongatus -----RSERPARTAKLPLPWIG-----LGVVVVLG
 Synechocystis GFSSNSA-----PESTSKHKSPRRRKKVTIKPVR-----FGIFLLCL
 Anabaena variabilis SYTQSTPPRQTPKRRRRKKPPEVVRNGHSIHQQHQPSPSTLGRKTRLLWIVLGSLLGGTILV
 Trichodesmium erythraeum EFNESTSIESG-----GLPQSIQEHSSRRTSAREPVKFG--RLILIAIVGFLILIGF
 Microcystis aeruginosa AAGNSGP-----AALETAKTALVAPKRRPARRKLR---LDRVALLVGLVGLVGT
 Cyanothece QSPNRKP-----ASTQTVPLAKTLPTR--PPRRSP-----KVGLTAVAVVGG
 Acaryochloris marina SLQTNDA-----GRGNQGASKTRRS SQLQYRRWFFAAGAVALLVLFALFFLG
 Thermosynechococcus elongatus -----RSPRNRCAQKRQTFWFMGAGVVLVGL---LGA
 Gloeobacter violaceus -----RRRANLLSPQAWS-----VAAALVAI
 Synechococcus -----RLS-----NLRWLAASLVVGLVAALAAAVMRRPR
 Prochlorococcus marinus -----EFASDGIAWIDLADLPRQTRPVLIGSVVFAALTAAF

MBR

Synechococcus elongatus GGTGVNAWRSRNSNTPPTPPPVVQT-----LPEAVP---APSPAPVTVALDR
 Synechocystis ASIIVGGATALIINRTGDPLGGLLEDPLDVFIDQPSEFIPDEAT---SRNLILSQPNFNQ
 Anabaena variabilis FWLIIVSTTFGWLKNVLFAPSLQGEQLSIOISQPPLEIPDKN-----AQIQVPEEGLTE
 Trichodesmium erythraeum IGLLTIKTIIGWLVNALG---WEREKLMIQIDRPPPIEIPED-----RVNLAASGFITK
 Microcystis aeruginosa IAVLALG-VKAIIVDSQSPLAALQGEQLPISLNTPPILEIPSAN-----AEVMEGIP-LDK
 Cyanothece VGLIGLG-ITWMSKANSPLSALEKGGYSVSLHQPLIDIP SAD-----AQMVTAIGMLTL
 Acaryochloris marina ISQCSRPEDEPVGAENPASEPASPDPISPASPSVSPASPPVASPTAPATATSEIIT
 Thermosynechococcus elongatus LAKVYWP---AKTAEAP-----PPVTPAPTVPATP---TPTQP-TTLAITLTP
 Gloeobacter violaceus FLLGGGWLLTQRQSRPEPAPAARPVAPPVAPAPIAAAPAPPQAAAPTATAAGDNQPPTD
 Synechococcus ETAPVVLQ-PEPDRQDAVE-PKPSAQDSA TLKPKQAILQPEASE--VAAQLPQLSDAPDD
 Prochlorococcus marinus AGFSLFGQRPRPSVSTAADQPQVTAPPTATLQ-EAVLMEQVQV---VSAVVEPLTLEQPNQ

DOMAINE V

Synechococcus elongatus AQAETVLQNLAAKAAALGQCYDRDRLATVLTGEVLTWQGFSSQQANTQLTSQFDHKL
 Synechocystis QVGGQVVGWLD SKKLAFGQNYDVGALQSVLAPNLAQQRGRARQDQAQKVYHQYEHKQL
 Anabaena variabilis ETAKKIENENWLATKAGALGASHKIEISLINEITGSALESQWRLIALQDKANRHRREYSHSVK
 Trichodesmium erythraeum EVAARTIQSWLDIKASALGNHKKIEQIPNILEVEPALSRWLPANALKQEKSYRRYEHLE
 Microcystis aeruginosa ETAKETIQAWLEAKSAAFSEHQKELKEVLTGSALELWQKRAALQGN-NYWRVHQDQV
 Cyanothece EGAQQVVEVTLSSKSAQAFGHDIISLKTILANPLSRWQRQAQQLQONQNYWYKHKQVQ
 Acaryochloris marina TSARQTIQSWQSAKAEAMERDHIASLDKILAEPSLEWKAQAQSDQLNQIHLEYTFDD-
 Thermosynechococcus elongatus EMARDRLHTWQIKAQALGRFFVVDKLTTLAEPELSRWRSRAQGLKSEGSYVWYTLKN-
 Gloeobacter violaceus AQIAAMLKWQTAQQALGPEHRTAQMOTMTGSPQRVWQKVEQSRQAGEYWKFSLKD-
 Synechococcus AOLRMLVQSWLDSKQALQGPS--QLPVARQRLLDQVDR--ERSKAVAGTTTVVVAS
 Prochlorococcus marinus AOLRDLLOAWLNSKAVVLAGGKSD-ALPEVARDPLVQRVAQ--ERARDAALAEETQVAVAS

Synechococcus elongatus VDSVOLSDGQRAVVOAKVDEVEQVYRG--DQLETRRLGLVIRYQLVRENNIWKIAS
 Synechocystis ILAYQVNPQDENRAIVTARVEISQFFTLGNQQQKGSATKDLTVRYQLVREHGGVWKIDQ
 Anabaena variabilis VDSISKSDIDENRASVGAIVRELTQFYE-NQ--KGSSEDERLVRVYELIRQDDIWRIQR
 Trichodesmium erythraeum ISNLIKMSNTNSNLAQVDAKVIKVEEYSDNCR--LTNTNNEVNFVRYDLVREKSKQKQISN
 Microcystis aeruginosa VRSVTVNNVKNFLATVEAIVNEKAMVFFH-NKKEIVNRSYNESLNLRYDLVRCQDKWLLIEK
 Cyanothece VNSFKPSTNNENQAVVDANVQESAQYQ-GGR--VSRSYNDNLVRVYDLIRCGGDRVLIQG
 Acaryochloris marina LKINAIKQQS-TEATVEAIVTEAKVFE-GQQTTDAYTGATYRVRVYQLVREHQQNRIKQ
 Thermosynechococcus elongatus LEVKVRLQRSDRVEVLAENEDAREYE-QCTLRTDISYSPYRVITVTFIRGNQWLIQG
 Gloeobacter violaceus LKIEQVADRRDRVAVTAQVTEVANLYT-DNQLRPSRSYRFPYRVVYSLVAPAGWRIEE
 Synechococcus VTSLDVVSRRRRIELQAVAYSDDTTD-RSGTVVDRTPVGSLLTITVILGRDGDQNKLTA
 Prochlorococcus marinus ISSVEVVSRTQRRIELNAVVTYRDQVDAAGKVVQDTPQKDLVTVILGRDPRWRLHE

	[REDACTED]
Synechococcus elongatus	I ^S LV ^R ---
Synechocystis	I ^Q V ^V NGPR
Anabaena variabilis	M ^S A ^A IN--
Trichodesmium erythraeum	W ^K V ^L R---
Microcystis aeruginosa	T ^Q V ^L P---
Cyanothece	I ^N V ^I N---
Acaryochloris marina	M ^Q V ^L N---
Thermosynechococcus elongatus	M ^Q V ^V S---
Gloeobacter violaceus	M ^K V ^L L---
Synechococcus	Y ^I P ^Q G---
Prochlorococcus marinus	Y ^I S ^G K---

Alignement des protéines FtsQ de protéobactéries, bactéries gram-positives et cyanobactéries

- Domaine transmembranaire
- Domaine α
- Domaine β
- Domaine γ

domaine transmembranaire

```

Salmonella enterica MSQAALNTRN-----SDEETPSSRRNNGTFLAGILFLLTFLVLCVTFVSGWVVLG
Escherichia coli MSQAALNTRN-----SEEE-VSSRRNNGTFLAGILFLLTFLVLTFLVSGWVVLG
Yersinia pestis MSQAALNARE-----RAAEKNAARRSNGSOLAGVIFLLMVLSTILWGQWVVLG

Synechococcus elongatus MVMADLPEVASP-----ASLAARRRQKRWERRQRQLQRFWRVGVTAIARGLVWV
Gloeobacter violaceus MNRSKIIHIAPQGTFTVTLVLSKAVLVARRQEFRRRRWLWRLILGLWRVLLAAGLARGLVWL
Thermosynechococcus elongatus MAMVNPTPEGTT-----VHDAIRERRRQLQTKRWRQVAGLWRTSVLTLTGLVWV
Synechocystis MTDLVVS-----DSLKNRREQLMWQRWKRIRSCWQFVVCGLTQGMWV
Microcystis aeruginosa MSDQILSS-----LSLEQKRQNLRHQRKSKVWQAGRFLVVSGLATGLAWG
Anabaena viriabilis MPGIASVSQ-----KELAQRRKKLRQRQMKITQATWQTATSGLAGGLLWV
Prochlorococcus marinus -----MKNEKRIYNSSFLLLLSSTSTLSL

Clostridium perfringens -----MSTNINEYIQKKRKKTRKKIILVSHILFVILGLIL
Clostridium botulinum -----MGLVIFV
Bacillus subtilis MNPGQDREKIVN-----IEERIPKIKEQRKQKANRRLISFIMLFFIMVLIVVY
Bacillus Cereus MKNSKVIKLDQR-----VPKLNQQKKNKKNVNHRLILYISILFLVLFVLIY
    
```

domaine α

```

Salmonella enterica WMEDAQLPLSKLIVLT-----ERHYTRNDDIRQAILALGAPGTFMFTQDVNI IQSQIEK--LPWIK
Escherichia coli WMEDAQLPLSKLIVLT-----ERHYTRNDDIRQSILAGGEPGTFMFTQDVNI IQTQIEQRLPWIK
Yersinia pestis WMKDANLPLSKLIVT-----ERHYTTNDDIRQAILALGAPGTFMFTQDVNI IQQQIEK--LPWIK

Synechococcus elongatus LAR---PLWIHQDPRRQIQG--QQTLNRRDLATLNLQMPILNLLQLQPORLEQQLLKAAPLQA
Gloeobacter violaceus ARE---PFWQIRSGAWRIVG--YERLQLDQLQRVLEKLDYPOFILSVRPEQLQORLLDALPLEA
Thermosynechococcus elongatus LTL---PYWIRGPEQVILIRG--NQLLKTALQAQLPLQYPEILLRFRQETIHFVLETTLPQR
Synechocystis MSW---HEWISRSDROVEFLG--NKLVSRETYEDLDLEYPQAVWQLSTQALGDELAKNPALLR
Microcystis aeruginosa MTS---PYWITKAGQVEIAG--TELMSSSEIRAWLKLISYPLSLWELPTHQLREKLAIPATAD
Anabaena viriabilis ALQ---PIWVLTPEQVLMKSD--NQLLSQBAIKSLVLSYPOS LWRIQPAATAISLKOPTIAQ
Prochlorococcus marinus KTL---KKVYLR--DRITSG--SELEFSQNDLAKNSSLEFPFIRLILINTFFLEKELKNLSLKN

Clostridium perfringens IKT---PYFNK--KVNNN--NVITKESVIGENDIN--QNIFFLNTSALRKKILSNPYVKS
Clostridium botulinum TKS---NVFIVK--KVAVT--NPIITGEDVKERCEKVLGNIFFVSKSDLEAKENPNYVEA
Bacillus subtilis LQT---FISKVS--TSVTN--ENYSKKEIIDLSDINSGDTEFFWSLDKQTEKIKQNKLVKK
Bacillus Cereus FRS---PLSNK--KISVFG--NHYMTDEQVMKESGVYDTSYFRVTAHKAEINLTIRKEIKA
    
```

domaine β

```

Salmonella enterica QASVRKQWPFDEKTHLVYVPIARWN-----DQHMDVDAEGNTFSVSPD
Escherichia coli QVSVRKQWPFDEKTHLVYVPIARWN-----DQHMDVDAEGNTFSVPPPE
Yersinia pestis QASVRKQWPFDEKTHLVYVPIARWN-----DLHMIDEQGRSEFSVSPSE

Synechococcus elongatus VQLQRRLLEASLITVQBITATQASR-----VVVEPNQPPQERWGLLDQGVVHPLSAY
Gloeobacter violaceus VRVERQLLPPSLIEVQREPVASAP-----LPNRP-----GIIDRSQVWIDSHQY
Thermosynechococcus elongatus VTIARQLFPPTLIVEVQRKPVAVATCNQCWVISETGQLQGPASRWLDGLGFWAPLSSY
Synechocystis VEVTRQLFPAQVNVAVQBRQPVAVAVAD-----QGPGLDGEQNYIPASLY
Microcystis aeruginosa VKIERQLLEPKVIVSIQBRKPVARWRSH-----QQQGFLDATGTIIPQNY
Anabaena viriabilis ATVSRRLFPFGLIEIEIRIPVAVAQRSR---EQSNSTSNKQNTGLIDANGVWIPLEKY
Prochlorococcus marinus VSWNBELFFGLKVNINTRPPIAYGDKILN-----DEKILGFIDKGVFIDRKN

Clostridium perfringens VKISR-KLEDLSSINNVERNATFIVNEG-----TDFYVLENLVIIMEKKN
Clostridium botulinum VIVTK-KFEPKQININIVKEGTYLDEG-----KMKLISNRLVLLERTDD
Bacillus subtilis AELSK-SLEPNKINIAIEEYKAIAYLEKD-----DVYYEVLENGSLVLPNEVT
Bacillus Cereus VNVKK-RFENKLDVHIEEYLTIGYINKD-----GKLQPLLENGKTDVLPN
    
```


Alignement des protéines FtsI de protéobactéries, bactéries gram-positives et cyanobactéries

-  Domaine transmembranaire
-  Domaine nPBP
-  Domaine PBP

	DTM
Synechococcus elongatus	-----MTVLPQARGGRNSRRSPRRSVPPQVIEPR RLLAIVLLLV IGA
Thermosynechococcus elongatus	-----MTTARFPNQSLPPLRIG--- LI FGFLLMV MGG
Synechocystis	-MDSSHPKLN--SSTANSPPFTKHISRQERHRQKTQQQGVV--- RLLLVWGF LV VAM
Microcystis Aeruginosa	MTDTRPRFRGKTRSPSGRIQDRKSYLNAKKRQKLLNPLSNG-- RLVAVVLI LV MGI
Anabaena varaibilis	-MQKSPSRLLKFRKFQKPEFTRRKRVPQKVAMKTIAPNTOEPLTSAKT RLLIVWGI L MTAG
Prochlorococcus marinus	-----MKKYKKIVRLIPLDRRF KELIYIFSL LL IFC
Gloeobacter violaceus	-----MRSIRRQTTSR----- LWLVGIGV L LAAA
Escherichia coli	-----MKAAAKTQKPKRQEEHANFISW REALLCGC IL LAL
Salmonella enterica	-----MKAAAKTQKSKRQEEQTNFISW REALLCGC IL LAL
Yersinia pestis	-----MKTARP GK LKRQEEQAS FISW REALLCGC IL LAL
Bacillus subtilis	-----MRVSNVTVRK RLLFVL LFG VIVE
Bacillus cereus	-----MRVSNVTVRK RLLFIL ISG ILIF
Clostridium perfringens	-----MKAKKN--KKIKLNE---G VLAFLA IV LIF
Clostridium botulinum	-----MKKLN---YKDRAKMR--- KMTIII AG LSCVE

Synechococcus elongatus	ALLGWRLFTVOVLE GPM--- LRQKATFQQRVM SPF LE RP ITDQGN L I AL DQ E IY T LY
Thermosynechococcus elongatus	VVA--RLIYLOV QGET--- LAARAQ Q ORRY TP PA L AYPI T DR ET V V AL DR FV TT L
Synechocystis	GGIAYRLYRLOV VEANQ--- LQMAKA Q QSTS M QPY V ERS I VD S QGN V L AT DR L IY T L
Microcystis aeruginosa	VGLAWRLYQLOV QEQE--- LQFRAR Q Q T T S LR P YI P RAI I VD S NG N V L AT DR L I Y T L
Anabaena variabilis	LGLAINWYNLQ ILQ GAK --- LTRAR N Q M V S LR P Y M PER L V D R N D N V L AV DR FV Y T L Y
Prochlorococcus marinus	LEG--RLVKLQV FNASE--- LQKAR L I H SS K T N SL K K ERS I V D R NN R L I AY DR F L Y K L W
Gloeobacter violaceus	GGIGYRLYDLOV TQAST--- LQFR A AL OR ERT V K S ER PE AG I V D R Q VA L AL D E F I D L Y
Escherichia coli	AFLGRLVAVLQV SPDM--- LVRE G DM RS LRV Q V ST SR G MIT D RS GR L AV S V F V K A I W
Salmonella enterica	VFLLGRAAWLQI TAPDM--- LV R Q G DM RS LRV Q V ST SR G MIT D RS GR L AV S V F V K A I W
Yersinia pestis	VGLIMRTAYLQV INPDK--- LVRE G DM RS LRV Q V PT AR G MIS D RS GR L AV S V F V N A V W
Bacillus subtilis	LIIDTRLGYVQ F V M G E K --- LT S L A K D S W S R N L FE F E P ER G E I L D R N G V L A T N K S A P T V F
Bacillus cereus	TLIDIRLGYVQ F L G N M--- LT R A K D S W S R N L T F E P E R G K I L D R N G V E L A T N K S A P T V F
Clostridium perfringens	LALSGRLLYIS IFRSKD--- YK A M A EE Q W T N E L Q I D A R G R I L D R NN R L AV T A N V F R V D
Clostridium botulinum	LVLISRLSYIM AKRQE--- YA A R A EE Q W T S E V K I D A R G R I L D R N G K E L A V S A N V Y R V D

Synechococcus elongatus	VHPQL FK E -----PIPS VA Q L A P I L G-M D V
Thermosynechococcus elongatus	AHP I Q FR V -----AR PA I A R D L A P L L R -Q S F
Synechocystis	VHP RY E A T K E I T -----D P T D Y I A R E L S A I L G D I T P
Microcystis aeruginosa	VHP K L E A I-----P P A E V A D K L A P L L N -I P S
Anabaena variabilis	AHP K L E K K-----T N E E I S D R L A P I D -R N P
Prochlorococcus marinus	AHP K Y E N F P G D S I N R -----V R S I E E V T K K L S I L D -I N D
Gloeobacter violaceus	AHP F L I L A E A K L L A S R Q A S R Q K G V D R E A L E A K L A A Q H R--Q A L R S E M L A L A Q A T G -R P A
Escherichia coli	ADP K E V H D A G G -----I S V G D R W K A L A N A L N -I P L
Salmonella enterica	ADP K E V H D A G G -----I S V G D R W K A L S T A L N -I P L
Yersinia pestis	ADP K E L I E Q G G -----I S L D T R W K A L S D A L E -I P L
Bacillus subtilis	VVPR Q V Q N P M K T S K Q-----L A A V L N M S E -K V Y
Bacillus cereus	VVPR Q I L K P A E T A E K-----L A A V L G V E K D -E I Y
Clostridium perfringens	L L I T L R K -Y I D K K D T D N I E I A K L-----L A E A L E M D E -K V L
Clostridium botulinum	F L N S I R S ---F L R Q D L T E K R R E K L S S V G I N V K P G Q E A L T T A D I A P V L S A L I D L D S E - K V K

Synechococcus elongatus
 Thermosynechococcus elongatus
 Synechocystis
 Microcystis aeruginosa
 Anabaena variabilis
 Prochlorococcus marinus
 Gloeobacter violaceus
 Escherichia coli
 Salmonella enterica
 Yersinia pestis
 Bacillus subtilis
 Bacillus cereus
 Clostridium perfringens
 Clostridium botulinum

STITQRFFSQSKS---IRRSDSLREAVTALRKLKLYLDGTEFEQRAQRLYFQKDLVFNIVAF
 EQLVAKKSTYPT---VPLAYDLEDDTAAKIRALNYDGLLELNQAWQRIYFQQBELMAGIVAY
 AQLKEKFKEKES---IKLATGLNEQAVRIGSLRMGVDLEKQYSRYYPQDEMAADVAY
 NQLIQKFKKKEK---IRLANQLTESVARGLKQLSLDGLVELEEKYARYYPQDDVADVAY
 ADIVKIFQGRKS---ITLTSSLEFELAEFRVKLSLDGLEMIPKYSRYYPQDDLVADVAY
 EITLRLKYNKIS---IKLLDKISEEKAKKIKNLQISGLDMFKYSQRYYPQGEIVSNLVAF
 AETAAARLTENRRT--VALARGLGHNARFRIVQAKLPGLDFGSRRRRBFYFPGANSALVAF
 DQLSARINANPK-RFYTLARQVNFDMADYIKKLLKLPGLHIREESRRYYFSGEVTAHLIAF
 DQLSARINANPK-RFYTLARQVNFDMADYIKKLLKLPGLHIREESRRYYFSGEVTAHLIAF
 DQLATRIANANPK-RFVYTLARQVNPALGEYIRKLLKLPGLHIREESRRYYFAGQVMHIIAV
 KHWTKKA---SIEKITPGRKISNKKAKEIKALDLKGVYVAECSIIRHYFSGFSLSHVLAFL
 KRITKKE---SIVRLDKGRKISHDKAKEVRRGSLKGVYIAECSIIRYYFPGNLSHVLAFL
 SRILELTPSGNPAANSATLIRREIKKAKKVKELDINGVIVSEDTKRYYPNGDFLSHTLAT
 EKLETKLPFGADAGSATLVRLEKDAKVRDENISGLVLSPTDKRYYPNNFLSHVLAFL

Synechococcus elongatus
 Thermosynechococcus elongatus
 Synechocystis
 Microcystis aeruginosa
 Anabaena variabilis
 Prochlorococcus marinus
 Gloeobacter violaceus
 Escherichia coli
 Salmonella enterica
 Yersinia pestis
 Bacillus subtilis
 Bacillus cereus
 Clostridium perfringens
 Clostridium botulinum

LNDRKQ-----QAGLFSQONLLQRPVLKASVRSRGLSGLPDPGVPAG-FLHQDMDRLQ
 VPRDHQ-----QAGIFSQNQLFQVHRSRQLSINALGEWLPALAPAPRALSHGYHVR
 VEGHQ-----QAGLFSQONLLQRPVLKASVRSRGLSGLPDPGVPAG-FLHQDMDRLQ
 VKKHRG-----QAGLFSQONLLQRPVLKASVRSRGLSGLPDPGVPAG-FLHQDMDRLQ
 VVDRR-----QAGVRSQKRWLERSVKTIRLSRAGNAGLMPDYAPEG-FLNSDLRMO
 VNDENKA-----SAGLLHLNNTIKIFYKSNLTKRGGDPTLPDSDAPG-DFISFYKSLG
 LNYEGQ-----QGVGFYHNRRLTGASSYPTLGPGLPLASTLPTAFEGFEPGRLLA
 TNVDSQ-----IEGVKSFDKWLTGQPGERIVRKDRYGRVIEEISSD---SQAAHNLA
 TNVDSQ-----IEGVKSFDKWLTGQPGERIVRKDRYGRVIEEISSD---SQAAHNLA
 TNIDGQ-----IEGVKSFDRWLTGQPGERTVRKDHYGRVIEEISSV---SQAAHNLA
 AGTNDQ-----LLGLFAYYDDDKKGERKSVKFTYDARCKKMPD-EADFYTPPKDGLDMK
 AGSDNQ-----LMGLKRYYDKELNGDEGHVRFADARCKQRMPE-VGDFKPKPEAGLNLG
 TNADGEG-----LSGLFLYNNELMGIPEVVRVSEVSGNSTSNFY-SETSFPTPVKGMT
 TNIDGQ-----LTGVVQYNNYLSGVPGMKISELDRNSGELLY-TISQFTPPVDGKDLT

Synechococcus elongatus
 Thermosynechococcus elongatus
 Synechocystis
 Microcystis aeruginosa
 Anabaena variabilis
 Prochlorococcus marinus
 Gloeobacter violaceus
 Escherichia coli
 Salmonella enterica
 Yersinia pestis
 Bacillus subtilis
 Bacillus cereus
 Clostridium perfringens
 Clostridium botulinum

LTLDGRLORTTQALRQQLKRYSAKRCAALVMDVRDGSMLLALVSEPTYDAN-----
 LTIDSRLOQTALQALRQLRKFNAKRGTIVLVDVKTGALRALVSEPSYDFN-----
 LTIDMRLOQRAARELLKQAQVQAKKRGTIVLVMQAQDCAALLAMVNEPTFNP-----
 VTLDDLQRAARETALREQLKRFNAKRGAIVMDPSLDGSLLALVCEPTFNP-----
 LTIDSRLOQATNALKEQLEKFGKRAVIVMDPAMDGSLALASQPTYNPN-----
 LTIDSKLQKASFNALSKQVSKKAKKGAIVMDVNVNNGRILSLVTPSYDFN-----
 LTIDARVQRAARELALEREVEANRVTREAAIVLEPQSGEILAMAVSPSFDNN-----
 LSIDERLQALVYRELNNVAVFNKAESSTAVLVVNTTGEVFLAMANSPSYNP-----
 LSIDERLQALVYRELNNVAVFNKAESSTAVLVVNTTGEVFLAMANSPSYNP-----
 LSVDERLQALVYRELNNVAVFNKAESSTAVLVVNTTGEVFLAMANSPSYNP-----
 LTVDSKVQTIMERELEDNREARYEPDGMTAVANPKNGEILGMSRPFDFE-----
 LTTDARINRIMEREMNTESTYNEPDGMTAIAMNPKNGEILGMSRPFDFE-----
 LTTIDENIQYFVEKVAEDALNRHNADSVSIAMNPNNGEILGMNPKPGFNPNPYEGSEAF
 LTTIDENIQYFAEKAAQQTIEDNKAKAVSILVMDPKSGEVLAMNPKDFNPNAPYEGTDFN

Synechococcus elongatus
 Thermosynechococcus elongatus
 Synechocystis
 Microcystis aeruginosa
 Anabaena variabilis
 Prochlorococcus marinus
 Gloeobacter violaceus
 Escherichia coli
 Salmonella enterica
 Yersinia pestis
 Bacillus subtilis
 Bacillus cereus
 Clostridium perfringens
 Clostridium botulinum

---RYFADPKLNDWAVHDLYEPGSTFKPINIAIALEEKVLDIN-DVYDEERIQVGGW
 ---HYRADPALFRNWAVSDLYEPGSTFKPINIAIALELNATPPT-TVYDPERIFVGGW
 ---EYYAKVEYFKNWSVSDLYEPGSTFKPVIIVALAMNEGVLPKE-DRENDSSWRVGPW
 ---EYYKANVALFNKNTVADQYEPGSTFKPIIVAMAMAGAIKAN-TVVNDPAAITVGPW
 ---EYSKADISLFNKNTVADLYEPGSTFKPLNVAIALENGVIKAL-DVFNDSAIRIGSH
 ---KFWLYDSELFRGWYSQDLFEPGSTFKPINLALALEEKVIVKQD-GFVEDIKINVGGW
 ---RYGFPPPAHFNKWAVSDLYEPGSTFKPVNVALALSAGAIRPE-TVVNDSSMSFORY
 ---NLSGTPKEAMNRRTITDVFEFGSTFKPMVMTALQGVVREN-SVFN-TIYPRINSH
 ---NLAGTPKDMNRRTITDVFEFGSTFKPMVMTALQGVVREN-SVFN-TVYPRINSH
 ---NLITGTPKDMNRRTITDIFFEPGSTFKPMVMTALQGVVREN-SVFN-TIYFVNSH
 -ADYQSVDPVSNRNLPLVWSTYEPGSTFKIITLAAALEEKVNLKRDQFYDKHAEVDEA
 -ADFQSVSPEVSNRNLPLVWSTYEPGSTFKIITLAAALNENLVLDKDTFYDDSAEVEGGA
 KGKDESARKLQNMWRNTIVSDAFEPGSIIFKIIITSIAAIEENIAGKD-EVYCYDSINVAGK
 DGANESERLQKMWNRNLVNDTFFPGSIIFKVVTAITALEENIVNAN-TDTCGGLHFNAR

Synechococcus elongatus
Thermosynechococcus elongatus
Synechocystis
Microcystis aeruginosa
Anabaena variabilis
Prochlorococcus marinus
Gloeobacter violaceus
Escherichia coli
Salmonella enterica
Yersinia pestis
Bacillus subtilis
Bacillus cereus
Clostridium perfringens
Clostridium botulinum

```

P I N N H D F S T A G R G R G P N L A Q V M C Y S S N V A M V H I V - E R M R P Q R Y F E W L Q K L Q I D K P V G T E L
P I Q N S D Y S Q R G R G A R L R I A E V L A Y S S N V A M V H M M - S R I P A R H Y Y R Y L R L R L G L T E T V G S D L
T I S N --- A S K S G A G M N I T Q V I R Y S S N V A M V A I A - R R I K P E R Y Y E L L Q G V G L D S R T G I D L
T I K N --- A S K Q S Y G A L D M A R V L Q T S S N V A M V Q I A - Q R M G R V D F Y K S L L G L D I N Q R V G V D L
T I R N --- A Q R N S Y G R I N T A Q I L Q N S S I G M V Q M I - Q R L K P S I Y N W L E R L G L G Q P V D T E L
T I S N --- W D K K N G I L D Y P T L L Q V S S N V G M V K T M - Q N L D P K Y W D W L E K L G I N K N L E T D L
T I S N --- Y D R R R E G A L S V T K V L M V S S N I G M I R L M - Q R M P P T A Y Y D K L E I G I G G A G S V D L
E I K D --- V A R Y S E L T L T G V L Q K S S N V G V S K L A - L A M P S S A L V D T Y S R F G L G K A T N E G L
E I K D --- V A R Y S E L T L T G V L Q K S S N V G V S K L A - L A M P S S A L V D T Y S R F G L G K A T N E G L
Q I K D --- V A R Y A E L S V T G L L Q K S S N V G V S K L A - L A M P S S A L V D T Y S R F G V G K A T N E G L
R L R C W K --- R G H G C L O T Y L E V V Q N S C N F G F V E L G - E R L G K E K L F K Y I R D F G F Q K T G I D L
R L K C W K --- A G H G S Q F E L E V V Q N S C N F G F I E L G - D R L G K D R L E K Y I R N F G F Q K T G I D L
N I K C W K --- P G H G V Q N F N O T E N S C N V A F M E M G - A K L G A E K L N E Y I R L F G F T Q S G I D L
Y I K C W R --- T Q H G A Q R F P D I T Q N S C N V G F M K L G - E M I G K E K L C E Y I E K F G F R K V S G I D L

```

Synechococcus elongatus
Thermosynechococcus elongatus
Synechocystis
Microcystis aeruginosa
Anabaena variabilis
Prochlorococcus marinus
Gloeobacter violaceus
Escherichia coli
Salmonella enterica
Yersinia pestis
Bacillus subtilis
Bacillus cereus
Clostridium perfringens
Clostridium botulinum

```

P F A T G S Q I K S R D E F V N Y V L E P A T A A F G Q G F S L T P L K L I Q L H A A I A N G G K L V T P H V I A G L V
P E T T A A Q I K P P E Q F I N Y P I E P A T A A F G Q G F S L T P L H L A Q L L A A T A N G G K M V T P H V I D G L Y
P G E A A S Y L K P R Q S F M D D P I E Q A T T S F G Q G L S L T P I K L L Q L N A M L A N G G K L V T P H V V K G L V
P G E V S G Y L K P E Q E F L D N A I E S A T A S F G Q G L S L T P I K L V Q L H G A L A N G G T L V T P H V I K G L A
P F A V S G T I K S Q E K F I H S P I E P A T T S F G Q G F S L T P L Q L V M H G A L A N G G K L V T P H V V R G L I
P E S T A G Q I K R K D L F V N Q S I E P A V T S F G K G F S I S P L L I Q L H A A L A N G G F E V T P H V T S ---
P G E T R G I I T N R T Q F A K Y P V Q V A I V A F G Q G V A L T P L Q L A S L H G A I A N G G M A I Q P H L V R A F E
V G E R S G L Y P Q K Q R W S -- D I E R A T F S F C Y G L M V T P L Q L A R V Y A T I G S Y C I Y R P L S I T K ---
V G E R S G L Y P Q K Q R W S -- D I E R A T F S F C Y G L M V T P L Q L A R V Y A T I G S Y C I Y R P L S I T K ---
V G E S S G L Y P K K Q R W S -- D I E R A T F S F C Y G L M V T P L Q L A R V Y A T I G S M G V Y R P L S I T R ---
Q G E G T G I L -- F L E R V G P V E Q A T T A F G Q G V S V T P I Q Q V A A V S A A V N G G T L Y T P Y I A K E W I
Q G E G S G I L -- F N L D K V G P V E Q A T T S F G Q G V S V T P I Q Q V A A V A A A V N G G T L Y Q Y I A K E F I
P G E A T G V I -- K N V E D I S A V D L A T I S F G Q T N T M N G I Q F M T A L N A V A N G G D L I Q P H I M K E F S
P G E A K G I V -- K K V D K I S E T D L A T I A F G Q T N T V N S V Q Y M T A F N A V A N G G O L I Q P H V M K E I T

```

Synechococcus elongatus
Thermosynechococcus elongatus
Synechocystis
Microcystis aeruginosa
Anabaena variabilis
Prochlorococcus marinus
Gloeobacter violaceus
Escherichia coli
Salmonella enterica
Yersinia pestis
Bacillus subtilis
Bacillus cereus
Clostridium perfringens
Clostridium botulinum

```

D S Q G Q L --- Y W Q P P R P E A P Q L F S A D T S K Q V M G L M E S V V A -- A G S G K P C V K G Y R L G G K T
D E N G Q L --- Q K R L E H P P P R R V S Q R T S Q A V I I M L G E V V R -- F G T G K P A H I P Y R L G G K T
D A R N H L --- H W Q P D H P V - K Q V V K P E V A H S V V Q M M E S V V S G D G T G K A A L I P G Y R V G G K T
D D R G R L --- H W Q P D Y P S - K K V F S P T V A R Q V E M M E T V V S -- K G T G V A R Q I P Y R I G G K T
D T K G Q I --- H Y T P N H P A P R Q I F S A A T T O K V V E M M E T V V T -- E G T G K V A Q I P Y R I A G K T
--- T F --- K E R V N K N P K Q F F S H E V S K I V L E W M E S V V D -- K G S G S G A K I E G Y R I A G K T
N D E G Q V --- L W K P E H R S T K R I I T S E A T V A V R E M M H V V E -- E G T G K P A R I P Y R I G G K T
----- V D P P V P G E R V E P E S I V T V V H M M E S V A L P - G G G V K A I K G Y R I A K T
----- V D P P V P G E R I P E S T V T V V H M M E S V A L P - G G G V K A I K G Y R I A K T
----- V D P P V A G E R I E P E P L V T V V H M M E S V A L P - G G G T K A I K G Y R I A K T
D P V T K K --- T V K Q S P I A K K Q V I S E E T S K Q I R Y A L E S V V A E -- G T G R N F V E G Y R V G G K T
D P K N N Q --- V V S K K T P V A K R K V I S K E T S E K V R Y A L E N V V A K -- G S G K G A F I D G Y R V G G K T
H K D D N G T K I I D E V F V P K I Q E N I V D E K S T M R V K A L E S T V S N -- G S S K D A G I E C I K V A G K T
H S G D N G V K I V D E S F N S K V T D - V A T K E K T A E L R S Y L E R V V T G -- G S G A G F F M E G Y H I G G K T

```

Synechococcus elongatus
Thermosynechococcus elongatus
Synechocystis
Microcystis aeruginosa
Anabaena variabilis
Prochlorococcus marinus
Gloeobacter violaceus
Escherichia coli
Salmonelle enterica
Yersinia pestis
Bacillus subtilis
Bacillus cereus
Clostridium perfringens
Clostridium botulinum

```

G T A Q K A E N -- G V Y V A G -- A R I T S F V G V L E A D N P R Y A M L V V V D E P R G - D D A Y G S T V A A P V V
G T A Q K A I G -- G T Y S N --- L R I T S F F A V F E L E Q P Q V I L A V V D E P R G - D D A Y G S T V A I P I V
G T A Q K A G P R - G G Y L A N -- A K I T S F V S I L F V D N P R Y V V V A I I D E P R G - A N A Y G G T V A A P V V
G T A Q K A S P T - G G Y L P N -- A K I T S F V A I L E I E S P R Y V V L V V V D E P R G - A N T F G S T V A A P V A
G T A Q K A S P N - G G Y I V G -- A R I T S F V A I L F V E S P R Y V I L A L V D E P R G - A N A Y G S T V A A P I V
G T S Q K A L N -- G S Y T S --- K K V C S F V A T L F V N D P K Y A V L V V V D E P S K - S Y A Y G S T V A V P V A
G T A Q K A N I G G R G Y L A G -- K K I T S F V G Y L E A R N P R Y V V L V V L D E P R S - C N A F G S T T A A P I V
G T A K K V G P D -- G R Y I N -- K Y I A Y T A G V A P A S Q P R E A L V V V I N D P A - G K Y Y G G A V S A P V F
G T A K K V G P D -- G R Y I N -- K Y I A Y T A G V A P A S Q P R E A L V V V I N D P A - G K Y Y G G A V S A P V F
G T A K K V G P D -- G R Y I N -- R Y L A Y T A G V A P A S N P R E A L V V V I N D P A - G K Y Y G G A V S A P V F
G T A Q K V K -- D G K Y L E N N -- H I V S F I G F A E A D D P E I V V Y V A V D N P R G - A F S L A - E R W Q P I V
G T A Q K V K -- D G K Y L E N N -- Y I V S F I G F A E A D D P E I V V Y V A V D N P R G - V T Q F G G V V A A P I V
G T A K K V D P E T G T Y G A G --- Y I A S E A G F A F Y D N P Q V S L I V I I D N P K N - G E H F G G I V A A P F A
G T A Q K V N P E N G T Y G A G Q -- Y I S F V G M A F V D D P K I T V M V T V D E P S N - C A Y Y A G Q V C T P A A

```

```

Synechococcus elongatus      KQMAEALVAIEGTAEN-----QN-----
Thermosynechococcus elongatus  RAVTESLITIEGTPES-----PQELRRPAAPASVSQ--
Synechocystis                 KNVMEALIAIKGTPES-----QPQ-----
Microcystis aeruginosa        KTVMNTLISLKGTPETSKVVPAGSATNPPRHD-----
Anabaena variabilis           KSVMEALIPTERLAPES-----QPIEEKP-----
Prochlorococcus marinus       KEITTESLIVIEKTPKIKN-----EMIVKKP-----
Gloeobacter violaceus         RELCQELISYGNLPEP-----PQELLLAAAPKKP-----

Escherichia coli              GAIMGGVLRMTNIEEDALTTGD---KNEFVINQGEIGTGGRS-----
Salmonella enterica           GAIMGGVLRMTNIEEDALATGE---KNEFVINQGEIGTGGRS-----
Yersinia pestis               GAIMGGVLRMTNIEEDALPTGD---KSELVINTKIGSGGRS-----

Bacillus subtilis             GNTMRDSEPELGVKPKRKNQIEKKYQWNDTKTIEVFNIVVGMMSVSDLESLLVN--LNVDASG
Bacillus cereus               GNTLRDALEVMGKPKRKEQVEREYKWDTPTEVFNILIGMKKKDLQTLVD--LKLDISG
Clostridium perfringens       GELFNNTFNYISLN---EGQLD---AKDESVIIPDLRGDKVTSAEKTLNELGINCVIEG
Clostridium botulinum         KMLRSDLIFNYLDSK---FSDENLS-QISRDVIIPEVRGMKVDEAKKVLKESKLNFSIDE

```

Alignement des protéines FtsW de protéobactéries, bactéries gram-positives et cyanobactéries

- Domaine transmembranire
- Boucle cytoplasmique
- Boucle périplasmique

```

Synechocystis -----MITAANLLRIIFPFYDP-----
Microcystis aeruginosa -----MWQYIIPFIDP-----
Anabaena variabilis -----MKLRSLIPIFFD-----
Thermosynechococcus elongatus -----MALKDASLLCQIRYSPFLEYEIPIVAGGSEGHLSVSWWRFLPFGDRLRGSE
Synechococcus elongatus -----
Gloeobacter violaceus -----MPTLLERLQAPLRDRTG-----
Prochlorococcus marinus -MEISQEKIKYKRISKRRKSLSSADFQKNQNNLIESIIP-----

Clostridium perfringens -----MKKKKTTKKS-----
Clostridium Botulinum -----MRVSKLKKK-----
Bacillus cereus -----MKK-----
Bacillus subtilis -----MTTKKT-----

Escherichia coli MRLSLPRLKMPRLPGFSILVWISTALKGWVMGSRDKDTE-----
Salmonelle enteric MRLSLPRLRMPRVPGFLLAWLFAALKGWVMASRDKDAD-----
Yersinia pestis -----MRMPGLG-----LFNTLKHVVMGSRSDT-----
    
```

```

DTM1 DTM2
Synechocystis ---EVLRFMSG EARLMRTFFFAAMAMGVVLFSA SYAESLDTSGTGLSITLTKQIAYLWLG
Microcystis aeruginosa ---DVKNWSAEARLLRMTFLWLLVGLVVFSA SYALADSRFDNGLYFFIRQLIWLWIG
Anabaena variabilis ---SVSTMAL EARLLRWLTFLLFFGLTILFSA SYVAVDVRQGFGLYFFKRIILWLWAS
Thermosynechococcus elongatus AVGGRRQWLTLEARLLHWLTLVWIGLGLVVFSA SFVGLAETGDLGLYFFSRQLLWLAG
Synechococcus elongatus -----MNLILG

Gloeobacter violaceus -ETSPNAWVPEARL LVLVILCWLALGLLVLFSA SLVGELOYDGLRFFTRQALTAAVG
Prochlorococcus marinus --LPWTMPYEAKI LVVILVGIWSTLGLTILGSSWVA SREMGN-WAVELKKQLIWTTFG

Clostridium perfringens -----NINPLDYG LLYTIVILLAIGVVMVYSA SYFAMVNYNDSTAFLLKKQALFAVVG
Clostridium botulinum -----NMGQIDYGI FSVVLLAVGVVMVYSA SYAMFKNNDSMYFLKROLVWAVLG
Bacillus cereus -----TPDFLIIIVTLA LLTIGMIMVYSA SAVWASYKMGDSFFFKAKRQLLFAAGL
Bacillus subtilis -----SPDLLVVIITLLLT IGLIMVYSA SAVWADYKFDLSFFFKAKRQLLFAAGL

Escherichia coli -----SLIMYDRTL LVLWTFGLAAIGFIMVTSASMP ICGQLTNDPFFFKAKRQGVYLILA
Salmonella enterica -----SLIMYDRTL LVLWTFGLAAIGFIMVTSASMP VCGQLANDPFFFAKRDALYIFLA
Yersinia pestis -----SMVLYDRTL LVLWTFGLAAIGFIMVTSASMP ICGQLANDPFFFAKRDALYLALA
    
```

```

DTM3 DTM4
Synechocystis LNI FNFVLR LPLQVCL KLV PWF LIVV LLLIFL TKS -GLGVE VNGAR RWISLGP ILLIQPSE
Microcystis aeruginosa LIGFNFLVRLP LPEKLLK IAPWMLLLV LGLILITLIP CLGTN INGATRWIKIGP ILLIQPSE
Anabaena variabilis LIGFN IIVNR PLQKILGISHWLLGLF LLLIFVTLVPLG KKAFDAARWIAIGP IPIQPSE
Thermosynechococcus elongatus WAGFQLFLR LPLQRS LQMAIPGFFL LLLIWA TRLPV GTTVMGATRWISIGSFQLQPSE
Synechococcus elongatus LLGFSWA IATPIQRFARWAPFGMGLCLVGLAL TLV--AGAT INGASRWLVIGP IPIQPSE
Gloeobacter violaceus LLLMFWD CRTRE DR LFAVALP VFGVLLAMVFLVKIP IIGVELNGAR RWLQLGPFSLQPSE
Prochlorococcus marinus LLGLF YFV LNTN RNLLKFSRIIFYL LFLIFL INT-NGIT VNGSSRWLMLG FVRLQPSE

Clostridium perfringens FIAMIF I SRCDYHKKKRLTGL LLLITP ILLVAVYAFPA---TKGAQRWIKLGP LSFQPSE
Clostridium botulinum MIVLCTTMS IDVHKIKRYTLWLMIGV ELLLVVFLFPG---VNGAQRWIQIGPMSFQPSE
Bacillus cereus VVAMFFIMKIDYVWWR TYSKVILLVCF ILLIIVLIPVGLVRGGARSWIGGAFS IQPSE
Bacillus subtilis VIAMFFIMVNDVWTRTWSKLLMVIC FELLVVLIPVGMVNRNGSRSWIGGAFS IQPSE

Escherichia coli FILAIIITLRLPMEF WQRYSATMLLGS IILLMIVLVVESS--VKGASRWIDLGLRLRIQPAE
Salmonella enterica FCLAMVTLRLPMTFWQRYSTTMLIAS IIMLLIIVLVVESS--VNGASRWIALGPRIQPAE
Yersinia pestis FGLSLVTLRIIPMDVWQRYSNIMLLIS IVLLLVLVVESS--VNGASRWIALGPRIQPAE
    
```

	DTM5	DTM6
Synechocystis	FMKPCVLVLAANLFCNWHRF	PWRSR---LIWLGIFALTIGSL
Microcystis aeruginosa	FMKPFVVLQGAFFVFGWPF	RLNVNQR---LTWTAIFGLLAGIL
Anabaena variabilis	LKPKPFLVLOSARLFGQWER	RLSWVR---LTWLGIFGLVILGIL
Thermosynechococcus elongatus	MMKPFVVLQAAVWFSSWRRL	HLLKAR---CFWLTAFALTLLGIL
Synechococcus elongatus	LMKPCVILQGAFFVFGWPF	RLSWAQR---GFWLAMEFLTLLGIL
Gloeobacter violaceus	LKPKPVLVLAANLFCNWHRF	PWRSR---LIWLGIFALTIGSL
Prochlorococcus marinus	LKPKPFLVLOSARLFGQWER	RLSWVR---LTWLGIFGLVILGIL
Clostridium perfringens	LAKYAVVILAHMITNKG	EKIKEFWKGI
Clostridium botulinum	LAKYVVVFLAKGIEMKGD	GIKNFTTGI
Bacillus cereus	FMKPFVVLQGAFFVFGWPF	RLNVNQR---LTWTAIFGLLAGIL
Bacillus subtilis	FMKPLAMTAFLEKELSEKQ	KNITSFRRGF
Escherichia coli	ETKLSLFCYILNLYLVRKGD	EVNRNLRGF
Salmonella enterica	ETKLSLFCYILNLYLVRKGD	EVNRNLRGF
Yersinia pestis	LSKLSLFCYILASYLVRKVD	EVRSNFWGFC

	DTM7
Synechocystis	IALASCLPWIYLLISTALLG
Microcystis aeruginosa	IALASCLPLISYMTSTALLG
Anabaena variabilis	IALAAGLPYKYLAGTAIGG
Thermosynechococcus elongatus	IALGAGLPLIAPLLLTAMSG
Synechococcus elongatus	IALAAGLPLAQLLLTVIGG
Gloeobacter violaceus	MCFAGGLPLIGLFAVLAAG
Prochlorococcus marinus	MGLCGGVKLSSECSFASLG
Clostridium perfringens	MVFVAGARKRMFGVITP
Clostridium botulinum	VLFSAAGRIKELFGIVAP
Bacillus cereus	MIFFISGARVVFH-FAMFGL
Bacillus subtilis	MEFVAGARIAH-EVFLGL
Escherichia coli	MLFLAGAKLWCFIAIIGMG
Salmonella enterica	MLFLAGAKLWCFIAIIGMG
Yersinia pestis	MLFLAGAKMWCFMAIIGSG

	DTM8
Synechocystis	YQLVQSLYAIASGGVLRGFG
Microcystis aeruginosa	YQLVQSLLAIGSGGTTCS
Anabaena variabilis	YQLVQSLLAIVGSGKTCG
Thermosynechococcus elongatus	YQLVQSLLAIVASGGVLRG
Synechococcus elongatus	YQLVQSLLAIGSGGTTCT
Gloeobacter violaceus	YQLVQSLLAIVGSGGLQCT
Prochlorococcus marinus	FQLVQSLLAIGSGGLFCG
Clostridium perfringens	YQLIQSEYALGAGGVTE
Clostridium botulinum	YQLIQSEYALGAGGVTE
Bacillus cereus	FQIIQSLLAIGSGGTTCT
Bacillus subtilis	FQIIQSLYAVFEGGLFC
Escherichia coli	YQLTQSLMAFRRGELW
Salmonella enterica	YQLTQSLMAFRRGELW
Yersinia pestis	YQLTQSLMAFRRGELW

	DTM9
Synechocystis	FTTMGLRVAMRCRHR
Microcystis aeruginosa	YATLALIVAVKCRHR
Anabaena variabilis	FATLGLVVALKAKNP
Thermosynechococcus elongatus	YGLWLMRVRVNRARDA
Synechococcus elongatus	FGTVGFVVALRSRRV
Gloeobacter violaceus	FLVVGRLVAVRCALP
Prochlorococcus marinus	FSEIISLRISLKRNN
Clostridium perfringens	FVYRGIKIAMSADKE
Clostridium botulinum	FIMRGIKIVAMSAKDT
Bacillus cereus	FLWRGIRIALGAPDL
Bacillus subtilis	FLWRGIRIALGAPDL
Escherichia coli	VAFRAMSIGRKALRIDHR
Salmonella enterica	VAFRAMSIGRKALRIDHR
Yersinia pestis	VAFRAMSIGRKALRIDHR

	DTM10	
Synechocystis	SSCLISLVLAGLLVRVARE	SNEAEVIPLGKTAPAV-----
Microcystis aeruginosa	SSSLASLFLAALLIRVARE	ENDFDLVSTSKKSPQKTVSVFSHQ-----
Anabaena variabilis	NSMIASLIGALLIRVARE	SSEAEVVPLRRPQMEKKRQRRMF-----
Thermosynechococcus elongatus	SSMMASMAIAGLLIRVARE	GGQAEVIAFPGATKARSRTSRSTRRRRAVPVPLRPEGINKP
Synechococcus elongatus	NALLSFLVAGLLIRVALEMDE	EIANSPGPTTPLKTI RRRSPA-----
Gloeobacter violaceus	SGLIASLLCCALLIRVARE	EMNLAPAVRFVRRRPAAPPPRPVAPAARPASEPVRREPSPLP
Prochlorococcus marinus	NSLMASFFIAGMLVRCSE	ESTGLIGMISTRKTLN-----
Clostridium perfringens	TALVFNLAMGILLNISR	QRNKKID-----
Clostridium botulinum	TSLVINMAAMGVLLNISR	QTEGKKDI-----
Bacillus cereus	SSLTLLMMAVGVLLNISR	HRSRY-----
Bacillus subtilis	SSLTLLMMAVGVLLNISR	YSRY-----
Escherichia coli	SSLLIMSTAIMMLLRIDY	TRLEKAQAFVGRSR-----
Salmonella enterica	SSLLIMSTAIMELLRIDY	TRLEKAQAFTRGSR-----
Yersinia pestis	SSLLIMSTAIIVLLRIDY	TRLEKAQAFVRSAR-----

Alignement des protéines SepF de bactéries gram-positives et cyanobactéries

Hélice amphiphile

```

Prochlorococcus marinus      -----MSLISRLKAVVAGD--EYLD-----DDFDELDYASE--
Synechococcus elongatus    MPCALASGQRKSVVSLPLEELIVS FVNRIRDIVGLN--ESLDFYD---EEYETYDVAADS-
Synechocystis               -----MLTKLKD FVGLS--EHD EYE---EDYD-EEMEFPQS
Microcystis aeruginosa      -----MNNLFTKLDKDFVGLS--EQPEDE---DETDEEMNWEKS
Anabaena variabilis         -----MNNLFSKLRD FVGLN--EQVEYEYEEADTDNYQNLQYQ
Thermosynechococcus elongatus -----MLGKLRDLMGLTP--ETDIYD---EEYPQGTARTLTT
Thermosynechococcus elongatus2 -----MS-----LTLAFG--HSLS-----
Gloeobacter violaceus       -----MVMSSFWSKVKDFVGEF--DPL EYE---EDGEEYEQVYREE

Bacillus subtilis           -----MKDKLKNFES---MED EYE-----
Bacillus cereus             -----MSWSKVFYFFDTP--EK EAA-----
Clostridium perfringens     -----MCM SKVVS KMSFLG---FD EFE-----
Clostridium botulinum      -----MSNVLTKMKSFLGLGDD EYDEYD-----
    
```

```

Prochlorococcus marinus      ----DELNDIDNFKNSPRNANALANANPFDLNNNRS SKVVGMPGISN---SSSEVSLME
Synechococcus elongatus    ---YNGYNDAAEETSRRRQFNHTPTAS---TEPVSTA SNVIGLPGLS----SSSEVVVME
Synechocystis               VAS-QPPAEVAPPRI SRPLS-LNNETSIGTGV-RNNVIGMPGIN---NSVAE VVVVE
Microcystis aeruginosa      SPQDRDQNEEEDPLNRRQRFP LN-LSTATSMGLN--RSNVIGMPGIN---NNNAE VVVE
Anabaena variabilis         QENPQPAPAEAAPNRRWRFPMTTMGDDVATG TKSAMGNVIGMPGAI---NGISEVLVLE
Thermosynechococcus elongatus -----EPGVEPLPASPTPTDFDTRPSPSVATG SVPTGSTA SNVIGMPNAGRWWGAVAEVLVMQ
Tel2                         -----SG-----YVVVIK
Gloeobacter violaceus       NKREEARRATAGTAAATPTAAQAASDAAPFVSGSPARKRVRAGNVIGMPNSGVNEVLVIE

Bacillus subtilis           -----EY EYIETERESHVHEQKEKPAYNGNKPACKQNVVSLQSVQ----KSSKVVLSL
Bacillus cereus             -----QYSYEKEQTDMMKQDPPEQQDVT EPKAQTKQNVVSIETAK----QSSKVVLL
Clostridium perfringens     -----DEDEVMEEEVMEEEESFAPVLSKKNKGVVNIHTAN----TKEMITK
Clostridium botulinum      -----DFDENYEDSDEDADDMIEPVI TNKKN SKVVNIHTSP----TTKVITK
    
```

```

Prochlorococcus marinus      PRSFD E M P Q A I Q A L R E R K T V I L N L T M M D P D Q A Q R A V D F I A G G T Y A I D G H Q E R V G E S I F L F
Synechococcus elongatus    PRSFE E M P Q A I Q A L R E R K T I V L N L T M M E P D Q A Q R A V D F V A G G T F A I D G H Q E R V G E S I F L F
Synechocystis               PHSFD E M P Q I Q T L R E R K S V V L N L N V M D P E E A Q R A V D F V A G G T F A I D G H Q E R I G E S I F L F
Microcystis aeruginosa      PHSFE E M P Q V I Q T L R E R K S V V L N L N V M D P E E A Q R A V D F V A G G T Y A I D G H Q E R I G E S I F L F
Anabaena variabilis         PRTEFE M P Q A I Q A L R E R K S V V L N L T I M D P D Q A Q R A V D F V A G G T Y A I D G H Q E R I G E S I F L F
Thermosynechococcus elongatus -----PRSFSE M P E V I K A L K E R K S V V L N L T L M E P E Q A Q R S V D F V A G A T F T I D G H Q E R I G E S I F L F
Tel2                         PQSLSE T T L I V Q A L E A D K A V I L N L E H L D V A E A Q R I S D F A G S T Y A I N H Q S R L G D C V F L F
Gloeobacter violaceus       PRSFE E A P Q I V Q H L R D R K S V I L N L T L M D S D Q A Q R S V D F V A G A T F A I D G H Q E R V G D G I F L F

Bacillus subtilis           PRVYAE A Q E T A C H L K N R R A D V V N L Q R I Q H D Q A K R I V D F L S G T V Y A I G G D I Q R I G S D I F L C
Bacillus cereus             PRTYSE A Q G E A D H L K G R R A V V I N L Q R M S T D Q A V R I V D F L S G T V Y A I G G D I Q K I G P K T F M C
Clostridium perfringens     ELVYD D A T E I C T A L K N R K I V V I N T S L E L R T A Q R L I D F V G G A C Y A I C G E L Q E V E K V F I V
Clostridium botulinum      FVDYEE A T E I C A L K N R R I V L V N T T L L E L K T A Q R L L D F I S G S C Y A I C G E L Q E I E K V Y I L
    
```

```

Prochlorococcus marinus      A P S C V N V T S S S P E E A S P S V P T E N T P Q Y S L G K N T T P E P A W C N S K L S A Y S -
Synechococcus elongatus    T P S C V H V T T Q G G E Q Y L N E S P A Q P V Q T T T S F G R T A T P T P A W C T D S R Y A A Q -
Synechocystis               T P N C V K V S S L A G -----R S Q E S N E T S S - S V S S D N -- F P T W C Y E T S R L A Q -
Microcystis aeruginosa      T P S C V K V S T L S G -----T I H D I T D N E K - M A R P V S P - A P A W C A E S S R L A Q -
Anabaena variabilis         T P S C V Q V S T Q G G -----V I H E V P Q P P A R P A R P A S T N P P A W C N E T N R M A Q -
Thermosynechococcus elongatus -----T P S C V Q V S T Q V G -----G V R P -----S A T P T P P P S A W C M D A Q Q H H S A
Tel2                         T P N V I N I -----Q E R T A V P T P A G L V -----
Gloeobacter violaceus       T P S S V M I S T E M P -----S Q L R Q A N Q A F G G N F R L N P E A P R R A Q G

Bacillus subtilis           T F D N V D V S G T I S -----E L I S E D E --- H Q R W -----
Bacillus cereus             T P E N V D I V G A I S -----E L F C E E E D T N I K R W -----
Clostridium perfringens     S P S N V E V S N E L K -----S E L S N K G M F N W A S K -----
Clostridium botulinum      S P S N V E V T N E L K -----N E L S S K A L F N W S K -----
    
```

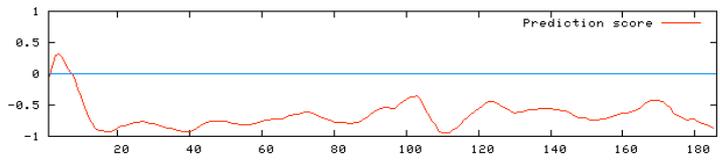
AMPHIPASEEK result for : UNK_229980

[Abstract](#) Sapay N, Guermeur Y, Deleage G. Prediction of amphipathic in-plane membrane anchors in monotopic proteins using a SVM classifier. BMC Bioinformatics. 2006, 7:255

```
      10      20      30      40      50      60      70      80
MILTKLKDFVGISEHDEYEBDYDEEMEFQSVASQPPAEVAPPPRISREPLSLNNETSIGTGVRNNVIGMPGINNSVAE
AAAAAA
cccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccc
5544443323321112222222222233223321121222333444444444433111223333322222112233331

VVVVEPHSFDEMPQVIQTLRERKSVVLNVLNMDPEEAQRAVDFVAGGTFAMDGHQERIGESIFLFTFNCVKVSSLGRSQ
eeeeccccchhhhhhhhhccceeeeeeccchhhhhhhhh?ccceeecccccccccccccccccccccccccccccccc
222222123444544322222122111112234355444311221221113333334422233222244343222

ESNETSSSVSSDNFPTWGYETSLAQ
cccccccccccccccccccccccccccc
21122221111222333443444455
```



Prédiction d'hélice amphiphile pour la protéine SepF de synechocystis (NPS@)

Alignement de protéines de la superfamille « DivIVA » de bactéries gram positives et de cyanobactéries

```

Prochlorococcus marinus      -----MSEPRFTVLEQLDQLEIVLEG-SRIPFSSRLVNEQE
Synechococcus elongatus    -----MSDARLAVLDHLDQLEIVLLEG-SRIPFSGRLVNEQF
Acharyochloris marina      -----MELQQQLQRLEIIVLDGLKMFPLTRRTVVDEEQ
Thermosynechococcus elongatus --MLYSNTDPISTTAGVNEALDAPSAVLQILLQQLQKLEELLILEGTKIPLTGRKLIIDEFQ
Trichodesmium erythraeum  -----MGRTLIIDEEQ
Anabaena variabilis
Cyanothece                  MARRNSS-PNVSINRQSNGTSSHREADFDIQQELARLQRIIYES-FHIPVSRWTIIDEK
Synechocystis              MTRRESANPEVTEN---SAVVPQTVDFDIQQQLAELEQLLYDS-FHIPLTAVSVVDEEK
Synechococcus              -----MTQAQSLDVLNLEQLLESVLDG-TRVPLSGRILVREND
Gloeobacter violaceus      -----MNIQKELDRLEMLLSS-PRIPFTGRTVIDENA

Clostridium perfringens 1   -----MESQVIEILDYLRIVIVEGA-SKVPITGKVVDRKE
Clostridium botulinum 1   -----MD-VIKKLAYLEELIESG-SSIPLTGKVTINRKE

Bacillus subtilis         -----MPLTPNDIHNKTFTKSEFRG---YDEDE
Bacillus cereus           -----MPLTPLDIHNKEFGRGFRG---YDEDE
Clostridium botulinum 2   -----MKITSMDITNKQFKKSMRG---YNCDE
Clostridium perfringens 2 -----MKLTPMDIHNKEFRVLRG---YCPDE

```

```

Prochlorococcus marinus      AVEVLDVAVRETLEGGVNDQQLLQKRDFITTRKQAEIVQQRNQREQLVNAASLRQE
Synechococcus elongatus    AVEVLDVAVRETLEKEFERAAQLLERRDEFINTAKQQAEEIVQQRKRQHEQLVSTASVRQE
Acharyochloris marina      LLSQLLAVERSIFDTHRSANILQNKEDIINRANQYAEELIQSAEQRAAQIADLDTIIQQ
Thermosynechococcus elongatus IINQLTQTEEAIPESVAAQQILKQRDEIKKQYRAQEIIRAAEQRAAQITDELRIQQ
Trichodesmium erythraeum  LLLQLLIVRLNLEVAFOEAEMIVRHKDDIFQEAELYAEIIEAEEQASQIILNEMGLVQQ
Anabaena variabilis        -----MFDQAAATLEQKQELLLAEFEYQQQLVDAQAQAKRAQILASDITIRQ
Cyanothece                  VLEQLLEFVGTKEIPEAIKKALRVLEQEEILANAEAYAQRIIQQRQEAEEILDESIVQR
Synechocystis              ILDQIVVAEFTFGAVHRAIAILEREQQILQGAELEAORMIEVVAHQEAQRITKDESGITQK
Synechococcus              LLDLLDQVDRAGLFAAIQQAQQLILERQAQILDAQQQQAQIVAQQQERALLIQNSIRLQ
Gloeobacter violaceus      ILDILDRIRMNLEKVIIEAERVVDQSEALVAQAQQAERILTLAEQRAERVRVESELLRV

Clostridium perfringens 1   VLELLDQVINCLEDEIKKAQWVIGEKERILAEARKENESVKQETYEEMMKRIENHNIIVKE
Clostridium botulinum 1   SLEVIKTIINCLEDEFKKAQWVCEEKERILTEAMEEAEHIKKENIIIFPKQIENHSTIRE

Bacillus subtilis         VNEFLAQVRKDYEVLRKKTELEAKVNEIDELIGHFANIEETLNKNSILVAQEAEDVKRN
Bacillus cereus           VNEFLDQIKDYELVIREKKALEEQVAQLEGKLDLHFSNIEDTLNKSIVVAQEAEEVKRN
Clostridium botulinum 2   VDEFLDKISDDYEELYKDNSSLEFRVNTLEELNHYDKMEETIQNTLLLAQNAAEQAKET
Clostridium perfringens 2   VDEFLDQIVVEEYELFKENTAKKELNSNDKTEHYSKIENTIQNTLLLAQNTAEQAKAN

```

```

Prochlorococcus marinus      EKQVABLRDQSRQQCQLLQTTTRQQAQLEHEMQSKLAQLEQQFASRRQQLEQEALEERR
Synechococcus elongatus    ERQVLELRQETRQCQLLQSTRKQGAQLEQEMQSKLAQEQQFAARRQQLEQEAQQR
Acharyochloris marina      EMEAQHLRKYVQGEITMR
Thermosynechococcus elongatus BLEAKIRQQVQQEVLMR
Trichodesmium erythraeum  KLEADQLRNQVQLDCBATQ
Anabaena variabilis        KQEADQLRRVQQCEEMM
Cyanothece                  CHEADQIRQQVQAECEBATQ
Synechocystis              QYEADQYKAVQDQCDALQRVQCEALQ
Synechococcus              ERDAQQLRQTLEQCDALRQQAIAEATQVRGEAQ
Gloeobacter violaceus      RSRADLKKAAQKQEAQIQ

Clostridium perfringens 1   HLRAQELIANARQAKTIR
Clostridium botulinum 1   NIKAEITIKNAEKESKYIR

Bacillus subtilis         QKEAKLIVREAEKNARLIIIN
Bacillus cereus           QKEAKLIVREAEKNARLIIIN
Clostridium botulinum 2   QKEADLIIKNAANDSAKRVIE
Clostridium perfringens 2   QKEADVLIKSANDTAQRILD

```

```

Prochlorococcus marinus      QQLDREAIDIKRQLTEQHERNRQQAIELEQIASEGSRLOKEAQNEAERLHNALQFRQQ
Synechococcus elongatus    QQFEQDAAEIKRQHAEQHEASRQQALQELETIREVLRLQSESRREEAERLHNALQFRQQ
Acharyochloris marina      -----QRNISEVERVTRQT-----QQELEAMRQA
Thermosynechococcus elongatus -----QRAIAEINLLRQNT-----EKELAHLRQV
Trichodesmium erythraeum  -----QATITELEQIAYQA-----QQELEEMRAR
Anabaena variabilis        -----QETLAEIDRKRAC-----QQELEEMROT
Cyanothece                  -----AQTMAEIEQQQLA-----NGEMQQLYQK
Synechocystis               -----RQTQQECDTLRRQTMGELEQIQVVT-----HQLTQFRQQ
Synechococcus               -----QFQLQVRQETDSLRRQQTQAELEQILRSQT-----QQQLSEQRQR
Gloeobacter violaceus      -----
Clostridium perfringens 1   -----LGSRYAD-----ELHSQLENE
Clostridium botulinum 1    -----VGARYAD-----ELTDLRE
Bacillus subtilis          -----SLSKSR-----KAMEIEE
Bacillus cereus            -----BALVKSR-----KVAFDIEE
Clostridium botulinum 2    -----KSDVDM-----KINDEFQY
Clostridium perfringens 2   -----KAHNDVI-----QINDEYDR

```

```

Prochlorococcus marinus      THQQCESLIQRSRHEAAGVQDGANRYARQTLGELERQLEKELISQ-----
Synechococcus elongatus    TQLQCEGLIQRSRKEAAAVQDGANRYARQTLGELLEVRLKEMAQ-----
Acharyochloris marina      AQAECEDIQLE-----ADRYARQVLRLEDRLGHMTR
Thermosynechococcus elongatus THRECEERQCE-----ADAYADRTLAEMERQLEKEMLA
Trichodesmium erythraeum  AIAECEELQNG-----ADDYADHVLDSEIQQLTNMLQ
Anabaena variabilis        AIAQAQETENG-----ADEYADHVLEGEIQDLKDMLR
Cyanothece                  SLAQAQQLQDG-----ADEYADAVLTRLERQELGEMLG
Synechocystis               TVQECFALQKQTEQEATEMQRDVTYADRLLSRLEGELEQMMR-----
Synechococcus               ILVCEELRRG-----ADSYADQVLRDMERQLEQMMQ-----
Gloeobacter violaceus      ALQQAQAVQSG-----ADQYARVRLGKLEGLGQLLQ
Clostridium perfringens 1   ITNKRLEFLNH-----MKNNMEKFAIDFTEDLDKATG
Clostridium botulinum 1    IEEKSQQMISI-----LRKNLEAFTASLEESVEIKTD
Bacillus subtilis          LKKQSKVFRTR-----FQMLTAAQLDLTKNDWDHL
Bacillus cereus            LKKQAKVFRTR-----FRMLLETQLEMNNDDWDL
Clostridium botulinum 2    TKQEFNKRNR-----YKTFMKTQMDMFEEMEKBFMKNYNLGTGIEEKVFPPEKE
Clostridium perfringens 2   VKQEFTRAK-----FRSEFMNFQIDTFDLEKDFIKNFNITK-----PEDQ

```

```

Prochlorococcus marinus      -----VLIAGROELVKIQTISSHESRGSTDQHTDKAVPINRGRANSKLRAM
Synechococcus elongatus    -----VVMAGROELVKIQTISSDGP--TVDDIEGKAVPISRGRRASRLRSM
Acharyochloris marina      -----VIQNGRSHQSSAS-----
Thermosynechococcus elongatus -----VIQNGRQYELKQHPAHRQP-----
Trichodesmium erythraeum  -----VIRNGRQQLGGDGTGLGTPLNHTND-----
Anabaena variabilis        -----VITNGRQQLERSD-SQAQRNSHSQKKK-----
Cyanothece                  -----VVRNGRQQLYNHSAQR---QTN-----TPGKQVSGGKK-
Synechocystis               -----SVSQRQILEYENSAEHNATITNRPVATPSPVLPSPGKPPRGDRP
Synechococcus               -----IIRNGRQALNLSENTPPPAPRRRSR-----
Gloeobacter violaceus      -----IVKNGRQSLHG-----
Clostridium perfringens 1   -----EIRSNIKERGDG-----
Clostridium botulinum 1    -----TIRNIKERNIK-----
Bacillus subtilis          -----LEYE--VDAVFEEKE-----
Bacillus cereus            -----IELEEVDELKKEETV-----
Clostridium botulinum 2    IEVQDSRALANEIDNSETREHSFKVSDITIDNSSLNKNNEIKSFYIKED-----
Clostridium perfringens 2   TETEEPQGIQ--IDFEEKEKTELKDIYEVETHFDDVN-EIKSFFAEE-----

```

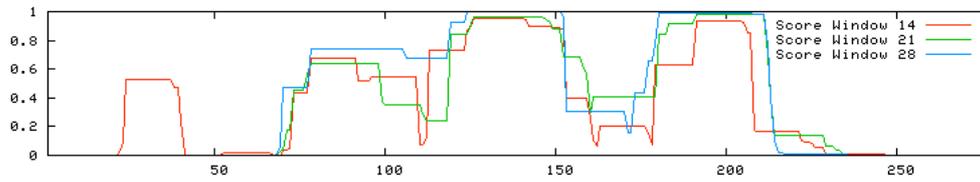
```

Prochlorococcus marinus      KNTG-
Synechococcus elongatus    KGTG-
Acharyochloris marina      ----
Thermosynechococcus elongatus ----
Trichodesmium erythraeum  ----
Anabaena variabilis        ----
Cyanothece                  -KRS-
Synechocystis               RRRSR
Synechococcus               ----
Gloeobacter violaceus      ----
Clostridium perfringens 1   ----
Clostridium botulinum 1    ----
Bacillus subtilis          ----
Bacillus cereus            ----
Clostridium botulinum 2    ----
Clostridium perfringens 2   ----

```

Coiled-Coils result for : UNK_228390

[Abstract](#) Lupas, A., Van Dyke, M., and Stock, J. Predicting Coiled Coils from Protein Sequences, Science 1991 252:1162-1164.



Under the sequence are the probabilities abbreviated to first digit for windows of 14, 21 and 28 residues and the corresponding heptads.

Coiled coils prediction result file (text): [\[Lupas\]](#)

Parameters :

Matrix : MTIDK
Weight of 2.5 for positions a & d : N

Prédiction de motif de type “coiled-coil” pour la protéine DivIVA de *Synechocystis* (NPS@)

V. Références

- Aarsman, M. E., Piette, A., Fraipont, C., Vinkenvleugel, T. M., Nguyen-Disteche, M. and den Blaauwen, T. (2005). Maturation of the Escherichia coli divisome occurs in two steps. *Mol Microbiol* **55**, 1631-45.
- Abed, R. M., Dobretsov, S. and Sudesh, K. (2009). Applications of cyanobacteria in biotechnology. *J Appl Microbiol* **106**, 1-12.
- Adam, M., Fraipont, C., Rhazi, N., Nguyen-Disteche, M., Lakaye, B., Frere, J. M., Devreese, B., Van Beeumen, J., van Heijenoort, Y., van Heijenoort, J. and Ghuysen, J. M. (1997). The bimodular G57-V577 polypeptide chain of the class B penicillin-binding protein 3 of Escherichia coli catalyzes peptide bond formation from thiolesters and does not catalyze glycan chain polymerization from the lipid II intermediate. *J Bacteriol* **179**, 6005-9.
- Addinall, S. G., Bi, E. and Lutkenhaus, J. (1996). FtsZ ring formation in fts mutants. *J Bacteriol* **178**, 3877-84.
- Addinall, S. G. and Lutkenhaus, J. (1996). FtsZ-spirals and -arcs determine the shape of the invaginating septa in some mutants of Escherichia coli. *Mol Microbiol* **22**, 231-7.
- Ananyev, G., Carrieri, D. and Dismukes, G. C. (2008). Optimization of metabolic capacity and flux through environmental cues to maximize hydrogen production by the cyanobacterium "Arthrospira (Spirulina) maxima". *Appl Environ Microbiol* **74**, 6102-13.
- Anderson, D. E., Gueiros-Filho, F. J. and Erickson, H. P. (2004). Assembly dynamics of FtsZ rings in Bacillus subtilis and Escherichia coli and effects of FtsZ-regulating proteins. *J Bacteriol* **186**, 5775-81.
- Aussel, L., Barre, F. X., Aroyo, M., Stasiak, A., Stasiak, A. Z. and Sherratt, D. (2002). FtsK Is a DNA motor protein that activates chromosome dimer resolution by switching the catalytic state of the XerC and XerD recombinases. *Cell* **108**, 195-205.
- Awramik, S. M. (1992). The oldest records of photosynthesis. *Photosynth Res* **33**, 75-89.
- Barber, J. (2008). Photosynthetic generation of oxygen. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* **363**, 2665-74.
- Beall, B., Lowe, M. and Lutkenhaus, J. (1988). Cloning and characterization of Bacillus subtilis homologs of Escherichia coli cell division genes ftsZ and ftsA. *J Bacteriol* **170**, 4855-64.
- Beall, B. and Lutkenhaus, J. (1992). Impaired cell division and sporulation of a Bacillus subtilis strain with the ftsA gene deleted. *J Bacteriol* **174**, 2398-403.

- Begg, K. J., Dewar, S. J. and Donachie, W. D. (1995). A new *Escherichia coli* cell division gene, *ftsK*. *J Bacteriol* **177**, 6211-22.
- Begg, K. J. and Donachie, W. D. (1998). Division planes alternate in spherical cells of *Escherichia coli*. *J Bacteriol* **180**, 2564-7.
- Bernhardt, T. G. and de Boer, P. A. (2003). The *Escherichia coli* amidase AmiC is a periplasmic septal ring component exported via the twin-arginine transport pathway. *Mol Microbiol* **48**, 1171-82.
- Bernhardt, T. G. and de Boer, P. A. (2005). SlmA, a nucleoid-associated, FtsZ binding protein required for blocking septal ring assembly over Chromosomes in *E. coli*. *Mol Cell* **18**, 555-64.
- Bi, E. and Lutkenhaus, J. (1993). Cell division inhibitors Sula and MinCD prevent formation of the FtsZ ring. *J Bacteriol* **175**, 1118-25.
- Bigot, S., Sivanathan, V., Possoz, C., Barre, F. X. and Cornet, F. (2007). FtsK, a literate chromosome segregation machine. *Mol Microbiol* **64**, 1434-41.
- Blattner, F. R., Plunkett, G., 3rd, Bloch, C. A., Perna, N. T., Burland, V., Riley, M., Collado-Vides, J., Glasner, J. D., Rode, C. K., Mayhew, G. F., Gregor, J., Davis, N. W., Kirkpatrick, H. A., Goeden, M. A., Rose, D. J., Mau, B. and Shao, Y. (1997). The complete genome sequence of *Escherichia coli* K-12. *Science* **277**, 1453-74.
- Bork, P., Sander, C. and Valencia, A. (1992). An ATPase domain common to prokaryotic cell cycle proteins, sugar kinases, actin, and hsp70 heat shock proteins. *Proc Natl Acad Sci USA* **89**, 7290-4.
- Bowler, L. D. and Spratt, B. G. (1989). Membrane topology of penicillin-binding protein 3 of *Escherichia coli*. *Mol Microbiol* **3**, 1277-86.
- Boyle, D. S., Khattar, M. M., Addinall, S. G., Lutkenhaus, J. and Donachie, W. D. (1997). *ftsW* is an essential cell-division gene in *Escherichia coli*. *Mol Microbiol* **24**, 1263-73.
- Bramhill, D. (1997). Bacterial cell division. *Annu Rev Cell Dev Biol* **13**, 395-424.
- Bramkamp, M., Emmins, R., Weston, L., Donovan, C., Daniel, R. A. and Errington, J. (2008). A novel component of the division-site selection system of *Bacillus subtilis* and a new mode of action for the division inhibitor MinCD. *Mol Microbiol* **70**, 1556-69.
- Buddelmeijer, N. and Beckwith, J. (2004). A complex of the *Escherichia coli* cell division proteins FtsL, FtsB and FtsQ forms independently of its localization to the septal region. *Mol Microbiol* **52**, 1315-27.

- Buddelmeijer, N., Judson, N., Boyd, D., Mekalanos, J. J. and Beckwith, J. (2002). YgbQ, a cell division protein in *Escherichia coli* and *Vibrio cholerae*, localizes in codependent fashion with FtsL to the division site. *Proc Natl Acad Sci U S A* **99**, 6316-21.
- Carballido-Lopez, R. and Errington, J. (2003). The bacterial cytoskeleton: in vivo dynamics of the actin-like protein Mbl of *Bacillus subtilis*. *Dev Cell* **4**, 19-28.
- Carson, M. J., Barondess, J. and Beckwith, J. (1991). The FtsQ protein of *Escherichia coli*: membrane topology, abundance, and cell division phenotypes due to overproduction and insertion mutations. *J Bacteriol* **173**, 2187-95.
- Chen, J. C. and Beckwith, J. (2001). FtsQ, FtsL and FtsI require FtsK, but not FtsN, for colocalization with FtsZ during *Escherichia coli* cell division. *Mol Microbiol* **42**, 395-413.
- Chen, J. C., Weiss, D. S., Ghigo, J. M. and Beckwith, J. (1999). Septal localization of FtsQ, an essential cell division protein in *Escherichia coli*. *J Bacteriol* **181**, 521-30.
- Colletti, K. S., Tattersall, E. A., Pyke, K. A., Froelich, J. E., Stokes, K. D. and Osteryoung, K. W. (2000). A homologue of the bacterial cell division site-determining factor MinD mediates placement of the chloroplast division apparatus. *Curr Biol* **10**, 507-16.
- Cooley, J. W. and Vermaas, W. F. (2001). Succinate dehydrogenase and other respiratory pathways in thylakoid membranes of *Synechocystis* sp. strain PCC 6803: capacity comparisons and physiological function. *J Bacteriol* **183**, 4251-8.
- Cordell, S. C., Anderson, R. E. and Lowe, J. (2001). Crystal structure of the bacterial cell division inhibitor MinC. *Embo J* **20**, 2454-61.
- Cordell, S. C., Robinson, E. J. and Lowe, J. (2003). Crystal structure of the SOS cell division inhibitor SulA and in complex with FtsZ. *Proc Natl Acad Sci U S A* **100**, 7889-94.
- D'Ulisse, V., Fagioli, M., Ghelardini, P. and Paolozzi, L. (2007). Three functional subdomains of the *Escherichia coli* FtsQ protein are involved in its interaction with the other division proteins. *Microbiology* **153**, 124-38.
- Dai, K., Xu, Y. and Lutkenhaus, J. (1993). Cloning and characterization of ftsN, an essential cell division gene in *Escherichia coli* isolated as a multicopy suppressor of ftsA12(Ts). *J Bacteriol* **175**, 3790-7.
- Dai, K., Xu, Y. and Lutkenhaus, J. (1996). Topological characterization of the essential *Escherichia coli* cell division protein FtsN. *J Bacteriol* **178**, 1328-34.
- Dajkovic, A., Lan, G., Sun, S. X., Wirtz, D. and Lutkenhaus, J. (2008). MinC spatially controls bacterial cytokinesis by antagonizing the scaffolding function of FtsZ. *Curr Biol* **18**, 235-44.

- Daniel, R. A. and Errington, J. (2000). Intrinsic instability of the essential cell division protein FtsL of *Bacillus subtilis* and a role for DivIB protein in FtsL turnover. *Mol Microbiol* **36**, 278-89.
- Daniel, R. A. and Errington, J. (2003). Control of cell morphogenesis in bacteria: two distinct ways to make a rod-shaped cell. *Cell* **113**, 767-76.
- Daniel, R. A., Harry, E. J., Katis, V. L., Wake, R. G. and Errington, J. (1998). Characterization of the essential cell division gene *ftsL*(yIID) of *Bacillus subtilis* and its role in the assembly of the division apparatus. *Mol Microbiol* **29**, 593-604.
- Davie, E., Sydnor, K. and Rothfield, L. I. (1984). Genetic basis of minicell formation in *Escherichia coli* K-12. *J Bacteriol* **158**, 1202-3.
- de Boer, P., Crossley, R. and Rothfield, L. (1992). The essential bacterial cell-division protein FtsZ is a GTPase. *Nature* **359**, 254-6.
- de Boer, P. A., Crossley, R. E., Hand, A. R. and Rothfield, L. I. (1991). The MinD protein is a membrane ATPase required for the correct placement of the *Escherichia coli* division site. *Embo J* **10**, 4371-80.
- de Boer, P. A., Crossley, R. E. and Rothfield, L. I. (1988). Isolation and properties of *minB*, a complex genetic locus involved in correct placement of the division site in *Escherichia coli*. *J Bacteriol* **170**, 2106-12.
- de Boer, P. A., Crossley, R. E. and Rothfield, L. I. (1989). A division inhibitor and a topological specificity factor coded for by the minicell locus determine proper placement of the division septum in *E. coli*. *Cell* **56**, 641-9.
- de Pedro, M. A., Quintela, J. C., Holtje, J. V. and Schwarz, H. (1997). Murein segregation in *Escherichia coli*. *J Bacteriol* **179**, 2823-34.
- de Pereda, J. M., Leynadier, D., Evangelio, J. A., Chacon, P. and Andreu, J. M. (1996). Tubulin secondary structure analysis, limited proteolysis sites, and homology to FtsZ. *Biochemistry* **35**, 14203-15.
- Den Blaauwen, T., Buddelmeijer, N., Aarsman, M. E., Hameete, C. M. and Nanninga, N. (1999). Timing of FtsZ assembly in *Escherichia coli*. *J Bacteriol* **181**, 5167-75.
- den Blaauwen, T., de Pedro, M. A., Nguyen-Disteche, M. and Ayala, J. A. (2008). Morphogenesis of rod-shaped sacculi. *FEMS Microbiol Rev* **32**, 321-44.
- Des Marais, D. J. (1991). Microbial mats, stromatolites and the rise of oxygen in the Precambrian atmosphere. *Glob Planet Change* **97**, 93-6.

- Dessen, A., Mouz, N., Gordon, E., Hopkins, J. and Dideberg, O. (2001). Crystal structure of PBP2x from a highly penicillin-resistant *Streptococcus pneumoniae* clinical isolate: a mosaic framework containing 83 mutations. *J Biol Chem* **276**, 45106-12.
- Di Lallo, G., Fagioli, M., Barionovi, D., Ghelardini, P. and Paolozzi, L. (2003). Use of a two-hybrid assay to study the assembly of a complex multicomponent protein machinery: bacterial septosome differentiation. *Microbiology* **149**, 3353-9.
- Din, N., Quardokus, E. M., Sackett, M. J. and Brun, Y. V. (1998). Dominant C-terminal deletions of FtsZ that affect its ability to localize in *Caulobacter* and its interaction with FtsA. *Mol Microbiol* **27**, 1051-63.
- Dismukes, G. C., Carrieri, D., Bennette, N., Ananyev, G. M. and Posewitz, M. C. (2008). Aquatic phototrophs: efficient alternatives to land-based crops for biofuels. *Curr Opin Biotechnol* **19**, 235-40.
- Donachie, W. D., Begg, K. J., Lutkenhaus, J. F., Salmond, G. P., Martinez-Salas, E. and Vincente, M. (1979). Role of the ftsA gene product in control of *Escherichia coli* cell division. *J Bacteriol* **140**, 388-94.
- Dorazi, R. and Dewar, S. J. (2000). Membrane topology of the N-terminus of the *Escherichia coli* FtsK division protein. *FEBS Lett* **478**, 13-8.
- Draper, G. C., McLennan, N., Begg, K., Masters, M. and Donachie, W. D. (1998). Only the N-terminal domain of FtsK functions in cell division. *J Bacteriol* **180**, 4621-7.
- Duez, C., Vanhove, M., Gallet, X., Bouillenne, F., Docquier, J., Brans, A. and Frere, J. (2001). Purification and characterization of PBP4a, a new low-molecular-weight penicillin-binding protein from *Bacillus subtilis*. *J Bacteriol* **183**, 1595-9.
- Ebersbach, G., Galli, E., Moller-Jensen, J., Lowe, J. and Gerdes, K. (2008). Novel coiled-coil cell division factor ZapB stimulates Z ring assembly and cell division. *Mol Microbiol* **68**, 720-35.
- Edwards, D. H. and Errington, J. (1997). The *Bacillus subtilis* DivIVA protein targets to the division septum and controls the site specificity of cell division. *Mol Microbiol* **24**, 905-15.
- Erickson, H. P. (1998). Atomic structures of tubulin and FtsZ. *Trends Cell Biol* **8**, 133-7.
- Erickson, H. P. (2001). The FtsZ protofilament and attachment of ZipA--structural constraints on the FtsZ power stroke. *Curr Opin Cell Biol* **13**, 55-60.
- Erickson, H. P., Taylor, D. W., Taylor, K. A. and Bramhill, D. (1996). Bacterial cell division protein FtsZ assembles into protofilament sheets and minirings, structural homologs of tubulin polymers. *Proc Natl Acad Sci U S A* **93**, 519-23.

- Errington, J. (2001). Septation and chromosome segregation during sporulation in *Bacillus subtilis*. *Curr Opin Microbiol* **4**, 660-6.
- Errington, J., Daniel, R. A. and Scheffers, D. J. (2003a). Cytokinesis in bacteria. *Microbiol Mol Biol Rev* **67**, 52-65, table of contents.
- Errington, J., Daniel, R. A. and Scheffers, D. J. (2003b). Cytokinesis in bacteria. *Microbiol Mol Biol Rev* **67**, 52-65.
- Fadda, D., Pischedda, C., Caldara, F., Whalen, M. B., Anderluzzi, D., Domenici, E. and Massidda, O. (2003). Characterization of divIVA and other genes located in the chromosomal region downstream of the dcw cluster in *Streptococcus pneumoniae*. *J Bacteriol* **185**, 6209-14.
- Feucht, A., Lucet, I., Yudkin, M. D. and Errington, J. (2001). Cytological and biochemical characterization of the FtsA cell division protein of *Bacillus subtilis*. *Mol Microbiol* **40**, 115-25.
- Feuillade, J. (1992). Les toxines des cyanobactéries. *revue des sciences de l'eau* **5**, 489-508.
- Flardh, K. (2003). Essential role of DivIVA in polar growth and morphogenesis in *Streptomyces coelicolor* A3(2). *Mol Microbiol* **49**, 1523-36.
- Flores, E. and Herrero, A. (2005). Nitrogen assimilation and nitrogen control in cyanobacteria. *Biochem Soc Trans* **33**, 164-7.
- Flynn, J. M., Neher, S. B., Kim, Y. I., Sauer, R. T. and Baker, T. A. (2003). Proteomic discovery of cellular substrates of the ClpXP protease reveals five classes of ClpX-recognition signals. *Mol Cell* **11**, 671-83.
- Fu, X., Shih, Y. L., Zhang, Y. and Rothfield, L. I. (2001). The MinE ring required for proper placement of the division site is a mobile structure that changes its cellular location during the *Escherichia coli* division cycle. *Proc Natl Acad Sci U S A* **98**, 980-5.
- Geissler, B. and Margolin, W. (2005). Evidence for functional overlap among multiple bacterial cell division proteins: compensating for the loss of FtsK. *Mol Microbiol* **58**, 596-612.
- Gerard, P., Vernet, T. and Zapun, A. (2002). Membrane topology of the *Streptococcus pneumoniae* FtsW division protein. *J Bacteriol* **184**, 1925-31.
- Ghigo, J. M. and Beckwith, J. (2000). Cell division in *Escherichia coli*: role of FtsL domains in septal localization, function, and oligomerization. *J Bacteriol* **182**, 116-29.
- Ghirardi, M. L., Dubini, A., Yu, J. and Maness, P. C. (2009). Photobiological hydrogen-producing systems. *Chem Soc Rev* **38**, 52-61.

- Ghosh, A. S., Chowdhury, C. and Nelson, D. E. (2008). Physiological functions of D-alanine carboxypeptidases in *Escherichia coli*. *Trends Microbiol* **16**, 309-17.
- Ghuysen, J. M. (1994). Molecular structures of penicillin-binding proteins and beta-lactamases. *Trends Microbiol* **2**, 372-80.
- Ghuysen, J. M., Lamotte-Brasseur, J., Joris, B. and Shockman, G. D. (1994). Binding site-shaped repeated sequences of bacterial wall peptidoglycan hydrolases. *FEBS Lett* **342**, 23-8.
- Glass, J. I., Lefkowitz, E. J., Glass, J. S., Heiner, C. R., Chen, E. Y. and Cassell, G. H. (2000). The complete sequence of the mucosal pathogen *Ureaplasma urealyticum*. *Nature* **407**, 757-62.
- Glockner, F. O., Kube, M., Bauer, M., Teeling, H., Lombardot, T., Ludwig, W., Gade, D., Beck, A., Borzym, K., Heitmann, K., Rabus, R., Schlesner, H., Amann, R. and Reinhardt, R. (2003). Complete genome sequence of the marine planctomycete *Pirellula* sp. strain 1. *Proc Natl Acad Sci U S A* **100**, 8298-303.
- Glynn, J. M., Froehlich, J. E. and Osteryoung, K. W. (2008). Arabidopsis ARC6 coordinates the division machineries of the inner and outer chloroplast membranes through interaction with PDV2 in the intermembrane space. *Plant Cell* **20**, 2460-70.
- Goehring, N. W. and Beckwith, J. (2005). Diverse paths to midcell: assembly of the bacterial cell division machinery. *Curr Biol* **15**, R514-26.
- Goehring, N. W., Gonzalez, M. D. and Beckwith, J. (2006). Premature targeting of cell division proteins to midcell reveals hierarchies of protein interactions involved in divisome assembly. *Mol Microbiol* **61**, 33-45.
- Goehring, N. W., Gueiros-Filho, F. and Beckwith, J. (2005). Premature targeting of a cell division protein to midcell allows dissection of divisome assembly in *Escherichia coli*. *Genes Dev* **19**, 127-37.
- Goffin, C. and Ghuysen, J. M. (1998). Multimodular penicillin-binding proteins: an enigmatic family of orthologs and paralogs. *Microbiol Mol Biol Rev* **62**, 1079-93.
- Goranov, A. I., Katz, L., Breier, A. M., Burge, C. B. and Grossman, A. D. (2005). A transcriptional response to replication status mediated by the conserved bacterial replication protein DnaA. *Proc Natl Acad Sci U S A* **102**, 12932-7.
- Gray, M. W. (1993). Origin and evolution of organelle genomes. *Curr Opin Genet Dev* **3**, 884-90.
- Grigorieva, G. and Shestakov, S. (1982). transformation in the cyanobacterium *Synechocystis* sp 6803. *FEMS Microbiol Lett* **13**, 367-370.

- Gueiros-Filho, F. J. and Losick, R. (2002). A widely conserved bacterial cell division protein that promotes assembly of the tubulin-like protein FtsZ. *Genes Dev* **16**, 2544-56.
- Guzman, L. M., Barondess, J. J. and Beckwith, J. (1992). FtsL, an essential cytoplasmic membrane protein involved in cell division in *Escherichia coli*. *J Bacteriol* **174**, 7716-28.
- Guzman, L. M., Weiss, D. S. and Beckwith, J. (1997). Domain-swapping analysis of FtsI, FtsL, and FtsQ, bitopic membrane proteins essential for cell division in *Escherichia coli*. *J Bacteriol* **179**, 5094-103.
- Haeusser, D. P., Garza, A. C., Buscher, A. Z. and Levin, P. A. (2007). The division inhibitor EzrA contains a seven-residue patch required for maintaining the dynamic nature of the medial FtsZ ring. *J Bacteriol* **189**, 9001-10.
- Haeusser, D. P. and Levin, P. A. (2008). The great divide: coordinating cell cycle events during bacterial growth and division. *Curr Opin Microbiol* **11**, 94-9.
- Haeusser, D. P., Schwartz, R. L., Smith, A. M., Oates, M. E. and Levin, P. A. (2004). EzrA prevents aberrant cell division by modulating assembly of the cytoskeletal protein FtsZ. *Mol Microbiol* **52**, 801-14.
- Hale, C. A. and de Boer, P. A. (1997). Direct binding of FtsZ to ZipA, an essential component of the septal ring structure that mediates cell division in *E. coli*. *Cell* **88**, 175-85.
- Hale, C. A. and de Boer, P. A. (1999). Recruitment of ZipA to the septal ring of *Escherichia coli* is dependent on FtsZ and independent of FtsA. *J Bacteriol* **181**, 167-76.
- Hale, C. A., Rhee, A. C. and de Boer, P. A. (2000). ZipA-induced bundling of FtsZ polymers mediated by an interaction between C-terminal domains. *J Bacteriol* **182**, 5153-66.
- Hamoen, L. W. and Errington, J. (2003). Polar targeting of DivIVA in *Bacillus subtilis* is not directly dependent on FtsZ or PBP 2B. *J Bacteriol* **185**, 693-7.
- Hamoen, L. W., Meile, J. C., de Jong, W., Noirot, P. and Errington, J. (2006). SepF, a novel FtsZ-interacting protein required for a late step in cell division. *Mol Microbiol* **59**, 989-99.
- Haney, S. A., Glasfeld, E., Hale, C., Keeney, D., He, Z. and de Boer, P. (2001). Genetic analysis of the *Escherichia coli* FtsZ.ZipA interaction in the yeast two-hybrid system. Characterization of FtsZ residues essential for the interactions with ZipA and with FtsA. *J Biol Chem* **276**, 11980-7.
- Harry, E., Monahan, L. and Thompson, L. (2006). Bacterial cell division: the mechanism and its precision. *Int Rev Cytol* **253**, 27-94.

- Harry, E. J. (2001). Bacterial cell division: regulating Z-ring formation. *Mol Microbiol* **40**, 795-803.
- Haydon, D. J., Stokes, N. R., Ure, R., Galbraith, G., Bennett, J. M., Brown, D. R., Baker, P. J., Barynin, V. V., Rice, D. W., Sedelnikova, S. E., Heal, J. R., Sheridan, J. M., Aiwale, S. T., Chauhan, P. K., Srivastava, A., Taneja, A., Collins, I., Errington, J. and Czaplewski, L. G. (2008). An inhibitor of FtsZ with potent and selective anti-staphylococcal activity. *Science* **321**, 1673-5.
- Heidrich, C., Templin, M. F., Ursinus, A., Merdanovic, M., Berger, J., Schwarz, H., de Pedro, M. A. and Holtje, J. V. (2001). Involvement of N-acetylmuramyl-L-alanine amidases in cell separation and antibiotic-induced autolysis of *Escherichia coli*. *Mol Microbiol* **41**, 167-78.
- Heidrich, C., Ursinus, A., Berger, J., Schwarz, H. and Holtje, J. V. (2002). Effects of multiple deletions of murein hydrolases on viability, septum cleavage, and sensitivity to large toxic molecules in *Escherichia coli*. *J Bacteriol* **184**, 6093-9.
- Henriques, A. O., Glaser, P., Piggot, P. J. and Moran, C. P., Jr. (1998). Control of cell shape and elongation by the rodA gene in *Bacillus subtilis*. *Mol Microbiol* **28**, 235-47.
- Holtje, J. V. (1995). From growth to autolysis: the murein hydrolases in *Escherichia coli*. *Arch Microbiol* **164**, 243-54.
- Holtje, J. V. (1998). Growth of the stress-bearing and shape-maintaining murein sacculus of *Escherichia coli*. *Microbiol Mol Biol Rev* **62**, 181-203.
- Holtendorff, J., Marie, D., Post, A. F., Partensky, F., Rivlin, A. and Hess, W. R. (2002). Synchronized expression of ftsZ in natural *Prochlorococcus* populations of the Red Sea. *Environ Microbiol* **4**, 644-53.
- Hu, Z., Gogol, E. P. and Lutkenhaus, J. (2002). Dynamic assembly of MinD on phospholipid vesicles regulated by ATP and MinE. *Proc Natl Acad Sci U S A* **99**, 6761-6.
- Hu, Z. and Lutkenhaus, J. (1999). Topological regulation of cell division in *Escherichia coli* involves rapid pole to pole oscillation of the division inhibitor MinC under the control of MinD and MinE. *Mol Microbiol* **34**, 82-90.
- Hu, Z. and Lutkenhaus, J. (2000). Analysis of MinC reveals two independent domains involved in interaction with MinD and FtsZ. *J Bacteriol* **182**, 3965-71.
- Hu, Z. and Lutkenhaus, J. (2001). Topological regulation of cell division in *E. coli*. spatiotemporal oscillation of MinD requires stimulation of its ATPase by MinE and phospholipid. *Mol Cell* **7**, 1337-43.

- Hu, Z. and Lutkenhaus, J. (2003). A conserved sequence at the C-terminus of MinD is required for binding to the membrane and targeting MinC to the septum. *Mol Microbiol* **47**, 345-55.
- Huang, J., Cao, C. and Lutkenhaus, J. (1996). Interaction between FtsZ and inhibitors of cell division. *J Bacteriol* **178**, 5080-5.
- Huecas, S., Llorca, O., Boskovic, J., Martin-Benito, J., Valpuesta, J. M. and Andreu, J. M. (2008). Energetics and geometry of FtsZ polymers: nucleated self-assembly of single protofilaments. *Biophys J* **94**, 1796-806.
- Ikeda, M., Sato, T., Wachi, M., Jung, H. K., Ishino, F., Kobayashi, Y. and Matsuhashi, M. (1989). Structural similarity among Escherichia coli FtsW and RodA proteins and Bacillus subtilis SpoVE protein, which function in cell division, cell elongation, and spore formation, respectively. *J Bacteriol* **171**, 6375-8.
- Ingram, L. O. and Fisher, W. D. (1973). Novel mutant impaired in cell division: evidence for a positive regulating factor. *J Bacteriol* **113**, 999-1005.
- Ingram, L. O., Olson, G. J. and Blackwell, M. M. (1975). Isolation of a small-cell mutant in the blue-green bacterium Agmenellum quadruplicatum. *J Bacteriol* **123**, 743-6.
- Ingram, L. O. and Van Baalen, C. (1970). Characteristics of a stable, filamentous mutant of a coccoid blue-green alga. *J Bacteriol* **102**, 784-9.
- Ingram, L. O., Van Baalen, C. and Fisher, W. D. (1972). Cell division mutations in the blue-green bacterium Agmenellum quadruplicatum strain BG1: a comparison of the cell wall. *J Bacteriol* **111**, 614-21.
- Ishikawa, S., Kawai, Y., Hiramatsu, K., Kuwano, M. and Ogasawara, N. (2006). A new FtsZ-interacting protein, YlmF, complements the activity of FtsA during progression of cell division in Bacillus subtilis. *Mol Microbiol* **60**, 1364-80.
- Ishino, F., Jung, H. K., Ikeda, M., Doi, M., Wachi, M. and Matsuhashi, M. (1989). New mutations fts-36, Its-33, and ftsW clustered in the mra region of the Escherichia coli chromosome induce thermosensitive cell growth and division. *J Bacteriol* **171**, 5523-30.
- Itoh, R., Fujiwara, M., Nagata, N. and Yoshida, S. (2001). A chloroplast protein homologous to the eubacterial topological specificity factor minE plays a role in chloroplast division. *Plant Physiol* **127**, 1644-55.
- Jensen, S. O., Thompson, L. S. and Harry, E. J. (2005). Cell division in Bacillus subtilis: FtsZ and FtsA association is Z-ring independent, and FtsA is required for efficient midcell Z-Ring assembly. *J Bacteriol* **187**, 6536-44.

- Jones, L. J., Carballido-Lopez, R. and Errington, J. (2001). Control of cell shape in bacteria: helical, actin-like filaments in *Bacillus subtilis*. *Cell* **104**, 913-22.
- Kaneko, T., Sato, S., Kotani, H., Tanaka, A., Asamizu, E., Nakamura, Y., Miyajima, N., Hirosawa, M., Sugiura, M., Sasamoto, S., Kimura, T., Hosouchi, T., Matsuno, A., Muraki, A., Nakazaki, N., Naruo, K., Okumura, S., Shimpo, S., Takeuchi, C., Wada, T., Watanabe, A., Yamada, M., Yasuda, M. and Tabata, S. (1996). Sequence analysis of the genome of the unicellular cyanobacterium *Synechocystis* sp. strain PCC6803. II. Sequence determination of the entire genome and assignment of potential protein-coding regions. *DNA Res* **3**, 109-36.
- Kang, C. M., Nyayapathy, S., Lee, J. Y., Suh, J. W. and Husson, R. N. (2008). Wag31, a homologue of the cell division protein DivIVA, regulates growth, morphology and polar cell wall synthesis in mycobacteria. *Microbiology* **154**, 725-35.
- Karimova, G., Dautin, N. and Ladant, D. (2005). Interaction network among *Escherichia coli* membrane proteins involved in cell division as revealed by bacterial two-hybrid analysis. *J Bacteriol* **187**, 2233-43.
- Karoui, M. E. and Errington, J. (2001). Isolation and characterization of topological specificity mutants of minD in *Bacillus subtilis*. *Mol Microbiol* **42**, 1211-21.
- Katis, V. L., Harry, E. J. and Wake, R. G. (1997). The *Bacillus subtilis* division protein DivIC is a highly abundant membrane-bound protein that localizes to the division site. *Mol Microbiol* **26**, 1047-55.
- Katis, V. L. and Wake, R. G. (1999). Membrane-bound division proteins DivIB and DivIC of *Bacillus subtilis* function solely through their external domains in both vegetative and sporulation division. *J Bacteriol* **181**, 2710-8.
- Kawai, Y., Moriya, S. and Ogasawara, N. (2003). Identification of a protein, YneA, responsible for cell division suppression during the SOS response in *Bacillus subtilis*. *Mol Microbiol* **47**, 1113-22.
- Kennedy, S. P., Chevalier, F. and Barre, F. X. (2008). Delayed activation of Xer recombination at dif by FtsK during septum assembly in *Escherichia coli*. *Mol Microbiol* **68**, 1018-28.
- Kim, S. Y., Gitai, Z., Kinkhabwala, A., Shapiro, L. and Moerner, W. E. (2006). Single molecules of the bacterial actin MreB undergo directed treadmilling motion in *Caulobacter crescentus*. *Proc Natl Acad Sci U S A* **103**, 10929-34.

- King, G. F., Rowland, S. L., Pan, B., Mackay, J. P., Mullen, G. P. and Rothfield, L. I. (1999). The dimerization and topological specificity functions of MinE reside in a structurally autonomous C-terminal domain. *Mol Microbiol* **31**, 1161-9.
- Koksharova, O. A., Klint, J. and Rasmussen, U. (2007). Comparative proteomics of cell division mutants and wild-type of *Synechococcus* sp. strain PCC 7942. *Microbiology* **153**, 2505-17.
- Koksharova, O. A. and Wolk, C. P. (2002). A novel gene that bears a DnaJ motif influences cyanobacterial cell division. *J Bacteriol* **184**, 5524-8.
- Kruse, T., Bork-Jensen, J. and Gerdes, K. (2005). The morphogenetic MreBCD proteins of *Escherichia coli* form an essential membrane-bound complex. *Mol Microbiol* **55**, 78-89.
- Labarre, J., Chauvat, F. and Thuriaux, P. (1989). Insertional mutagenesis by random cloning of antibiotic resistance genes into the genome of the cyanobacterium *Synechocystis* strain PCC 6803. *J Bacteriol* **171**, 3449-57.
- Lackner, L. L., Raskin, D. M. and de Boer, P. A. (2003). ATP-dependent interactions between *Escherichia coli* Min proteins and the phospholipid membrane in vitro. *J Bacteriol* **185**, 735-49.
- Layec, S., Decaris, B. and Leblond-Bourget, N. (2008). Diversity of Firmicutes peptidoglycan hydrolases and specificities of those involved in daughter cell separation. *Res Microbiol* **159**, 507-15.
- Le Gouellec, A., Roux, L., Fadda, D., Massidda, O., Vernet, T. and Zapun, A. (2008). Roles of pneumococcal DivIB in cell division. *J Bacteriol*.
- Leganes, F., Blanco-Rivero, A., Fernandez-Pinas, F., Redondo, M., Fernandez-Valiente, E., Fan, Q., Lechno-Yossef, S. and Wolk, C. P. (2005). Wide variation in the cyanobacterial complement of presumptive penicillin-binding proteins. *Arch Microbiol* **184**, 234-48.
- Levin, P. A., Kurtser, I. G. and Grossman, A. D. (1999). Identification and characterization of a negative regulator of FtsZ ring formation in *Bacillus subtilis*. *Proc Natl Acad Sci U S A* **96**, 9642-7.
- Levin, P. A. and Losick, R. (1994). Characterization of a cell division gene from *Bacillus subtilis* that is required for vegetative and sporulation septum formation. *J Bacteriol* **176**, 1451-9.

- Levin, P. A., Margolis, P. S., Setlow, P., Losick, R. and Sun, D. (1992). Identification of *Bacillus subtilis* genes for septum placement and shape determination. *J Bacteriol* **174**, 6717-28.
- Levin, P. A., Schwartz, R. L. and Grossman, A. D. (2001). Polymer stability plays an important role in the positional regulation of FtsZ. *J Bacteriol* **183**, 5449-52.
- Li, Z., Trimble, M. J., Brun, Y. V. and Jensen, G. J. (2007). The structure of FtsZ filaments in vivo suggests a force-generating role in cell division. *Embo J* **26**, 4694-708.
- Liu, Z., Mukherjee, A. and Lutkenhaus, J. (1999). Recruitment of ZipA to the division site by interaction with FtsZ. *Mol Microbiol* **31**, 1853-61.
- Lock, R. L. and Harry, E. J. (2008). Cell-division inhibitors: new insights for future antibiotics. *Nat Rev Drug Discov* **7**, 324-38.
- Low, H. H., Moncrieffe, M. C. and Lowe, J. (2004). The crystal structure of ZapA and its modulation of FtsZ polymerisation. *J Mol Biol* **341**, 839-52.
- Lowe, J. (1998). Crystal structure determination of FtsZ from *Methanococcus jannaschii*. *J Struct Biol* **124**, 235-43.
- Lowe, J. and Amos, L. A. (1998). Crystal structure of the bacterial cell-division protein FtsZ. *Nature* **391**, 203-6.
- Lowe, J. and Amos, L. A. (1999). Tubulin-like protofilaments in Ca²⁺-induced FtsZ sheets. *Embo J* **18**, 2364-71.
- Lowe, J. and Amos, L. A. (2000). Helical tubes of FtsZ from *Methanococcus jannaschii*. *Biol Chem* **381**, 993-9.
- Lu, C., Reedy, M. and Erickson, H. P. (2000). Straight and curved conformations of FtsZ are regulated by GTP hydrolysis. *J Bacteriol* **182**, 164-70.
- Lupas, A. (1996). Coiled coils: new structures and new functions. *Trends Biochem Sci* **21**, 375-82.
- Lutkenhaus, J. (2002). Dynamic proteins in bacteria. *Curr Opin Microbiol* **5**, 548-52.
- Lutkenhaus, J. (2007a). Assembly dynamics of the bacterial MinCDE system and spatial regulation of the Z ring. *Annu Rev Biochem* **76**, 539-62.
- Lutkenhaus, J. (2007b). Assembly Dynamics of the Bacterial MinCDE System and Spatial Regulation of the Z Ring. *Annu Rev Biochem*.
- Lutkenhaus, J. F. and Donachie, W. D. (1979). Identification of the *ftsA* gene product. *J Bacteriol* **137**, 1088-94.

- Lutkenhaus, J. F., Wolf-Watz, H. and Donachie, W. D. (1980). Organization of genes in the *ftsA-envA* region of the *Escherichia coli* genetic map and identification of a new *fts* locus (*ftsZ*). *J Bacteriol* **142**, 615-20.
- Ma, X. and Margolin, W. (1999). Genetic and functional analyses of the conserved C-terminal core domain of *Escherichia coli* FtsZ. *J Bacteriol* **181**, 7531-44.
- Maple, J., Aldridge, C. and Moller, S. G. (2005). Plastid division is mediated by combinatorial assembly of plastid division proteins. *Plant J* **43**, 811-23.
- Marbouty, M., Mazouni, K., Saguez, C., Cassier-Chauvat, C. and Chauvat, F. (2009). Characterization of the *Synechocystis* PCC6803 penicillin-binding proteins and cytokinetic proteins FtsQ and FtsW, and their network of interactions with ZipN. *J Bacteriol*.
- Margolin, W. (2000). Themes and variations in prokaryotic cell division. *FEMS Microbiol Rev* **24**, 531-48.
- Margolin, W. (2001). Spatial regulation of cytokinesis in bacteria. *Curr Opin Microbiol* **4**, 647-52.
- Marraccini, P., Bulteau, S., Cassier-Chauvat, C., Mermet-Bouvier, P. and Chauvat, F. (1993). A conjugative plasmid vector for promoter analysis in several cyanobacteria of the genera *Synechococcus* and *Synechocystis*. *Plant Mol Biol* **23**, 905-9.
- Marston, A. L. and Errington, J. (1999). Selection of the midcell division site in *Bacillus subtilis* through MinD-dependent polar localization and activation of MinC. *Mol Microbiol* **33**, 84-96.
- Marston, A. L., Thomaidis, H. B., Edwards, D. H., Sharpe, M. E. and Errington, J. (1998). Polar localization of the MinD protein of *Bacillus subtilis* and its role in selection of the mid-cell division site. *Genes Dev* **12**, 3419-30.
- Martin, W., Rujan, T., Richly, E., Hansen, A., Cornelsen, S., Lins, T., Leister, D., Stoebe, B., Hasegawa, M. and Penny, D. (2002). Evolutionary analysis of Arabidopsis, cyanobacterial, and chloroplast genomes reveals plastid phylogeny and thousands of cyanobacterial genes in the nucleus. *Proc Natl Acad Sci U S A* **99**, 12246-51.
- Massey, T. H., Mercogliano, C. P., Yates, J., Sherratt, D. J. and Lowe, J. (2006). Double-stranded DNA translocation: structure and mechanism of hexameric FtsK. *Mol Cell* **23**, 457-69.
- Mazouni, K., Bulteau, S., Cassier-Chauvat, C. and Chauvat, F. (1998). Promoter element spacing controls basal expression and light inducibility of the cyanobacterial *secA* gene. *Mol Microbiol* **30**, 1113-22.

- Mazouni, K., Domain, F., Cassier-Chauvat, C. and Chauvat, F. (2004). Molecular analysis of the key cytokinetic components of cyanobacteria: FtsZ, ZipN and MinCDE. *Mol Microbiol* **52**, 1145-58.
- McCormick, J. R., Su, E. P., Driks, A. and Losick, R. (1994). Growth and viability of *Streptomyces coelicolor* mutant for the cell division gene *ftsZ*. *Mol Microbiol* **14**, 243-54.
- Meinhardt, H. and de Boer, P. A. (2001). Pattern formation in *Escherichia coli*: a model for the pole-to-pole oscillations of Min proteins and the localization of the division site. *Proc Natl Acad Sci U S A* **98**, 14202-7.
- Mercer, K. L. and Weiss, D. S. (2002). The *Escherichia coli* cell division protein FtsW is required to recruit its cognate transpeptidase, FtsI (PBP3), to the division site. *J Bacteriol* **184**, 904-12.
- Mermet-Bouvier, P., Cassier-Chauvat, C., Marraccini, P. and Chauvat, F. (1993). Transfer and replication of RSF1010-derived plasmids in several cyanobacteria of the genera *Synechocystis* and *Synechococcus*. *Curr Microbiol* **26**, 323-327.
- Mermet-Bouvier, P. and Chauvat, F. (1994). A conditional expression vector for the cyanobacteria *Synechocystis* sp. strains PCC6803 and PCC6714 or *Synechococcus* sp. strains PCC7942 and PCC6301. *Curr Microbiol* **28**, 145-8.
- Miyagishima, S. Y., Wolk, C. P. and Osteryoung, K. W. (2005). Identification of cyanobacterial cell division genes by comparative and mutational analyses. *Mol Microbiol* **56**, 126-43.
- Mizusawa, S. and Gottesman, S. (1983). Protein degradation in *Escherichia coli*: the *lon* gene controls the stability of *sulA* protein. *Proc Natl Acad Sci U S A* **80**, 358-62.
- Morlot, C., Noirclerc-Savoye, M., Zapun, A., Dideberg, O. and Vernet, T. (2004). The D,D-carboxypeptidase PBP3 organizes the division process of *Streptococcus pneumoniae*. *Mol Microbiol* **51**, 1641-8.
- Morlot, C., Zapun, A., Dideberg, O. and Vernet, T. (2003). Growth and division of *Streptococcus pneumoniae*: localization of the high molecular weight penicillin-binding proteins during the cell cycle. *Mol Microbiol* **50**, 845-55.
- Mosyak, L., Zhang, Y., Glasfeld, E., Haney, S., Stahl, M., Seehra, J. and Somers, W. S. (2000). The bacterial cell-division protein ZipA and its interaction with an FtsZ fragment revealed by X-ray crystallography. *Embo J* **19**, 3179-91.
- Moy, F. J., Glasfeld, E., Mosyak, L. and Powers, R. (2000). Solution structure of ZipA, a crucial component of *Escherichia coli* cell division. *Biochemistry* **39**, 9146-56.

- Mukherjee, A. and Lutkenhaus, J. (1994). Guanine nucleotide-dependent assembly of FtsZ into filaments. *J Bacteriol* **176**, 2754-8.
- Mukherjee, A. and Lutkenhaus, J. (1998). Dynamic assembly of FtsZ regulated by GTP hydrolysis. *Embo J* **17**, 462-9.
- Mukherjee, A. and Lutkenhaus, J. (1999). Analysis of FtsZ assembly by light scattering and determination of the role of divalent metal cations. *J Bacteriol* **181**, 823-32.
- Mukherjee, A., Saez, C. and Lutkenhaus, J. (2001). Assembly of an FtsZ mutant deficient in GTPase activity has implications for FtsZ assembly and the role of the Z ring in cell division. *J Bacteriol* **183**, 7190-7.
- Mulder, E. and Woldringh, C. L. (1989). Actively replicating nucleoids influence positioning of division sites in Escherichia coli filaments forming cells lacking DNA. *J Bacteriol* **171**, 4303-14.
- Nakanishi, H., Suzuki, K., Kabeya, Y. and Miyagishima, S. Y. (2009). Plant-specific protein MCD1 determines the site of chloroplast division in concert with bacteria-derived MinD. *Curr Biol* **19**, 151-6.
- Nanninga, N. (1998). Morphogenesis of Escherichia coli. *Microbiol Mol Biol Rev* **62**, 110-29.
- Nguyen-Disteche, M., Fraipont, C., Buddelmeijer, N. and Nanninga, N. (1998). The structure and function of Escherichia coli penicillin-binding protein 3. *Cell Mol Life Sci* **54**, 309-16.
- Niki, H., Imamura, R., Kitaoka, M., Yamanaka, K., Ogura, T. and Hiraga, S. (1992). E.coli MukB protein involved in chromosome partition forms a homodimer with a rod-and-hinge structure having DNA binding and ATP/GTP binding activities. *Embo J* **11**, 5101-9.
- Niki, H., Jaffe, A., Imamura, R., Ogura, T. and Hiraga, S. (1991). The new gene mukB codes for a 177 kd protein with coiled-coil domains involved in chromosome partitioning of E. coli. *Embo J* **10**, 183-93.
- Nogales, E., Wolf, S. G. and Downing, K. H. (1998). Structure of the alpha beta tubulin dimer by electron crystallography. *Nature* **391**, 199-203.
- Ohashi, T., Hale, C. A., de Boer, P. A. and Erickson, H. P. (2002). Structural evidence that the P/Q domain of ZipA is an unstructured, flexible tether between the membrane and the C-terminal FtsZ-binding domain. *J Bacteriol* **184**, 4313-5.
- Oliva, M. A., Cordell, S. C. and Lowe, J. (2004). Structural insights into FtsZ protofilament formation. *Nat Struct Mol Biol* **11**, 1243-50.

- Osteryoung, K. W. and Vierling, E. (1995). Conserved cell and organelle division. *Nature* **376**, 473-4.
- Pares, S., Mouz, N., Petillot, Y., Hakenbeck, R. and Dideberg, O. (1996). X-ray structure of *Streptococcus pneumoniae* PBP2x, a primary penicillin target enzyme. *Nat Struct Biol* **3**, 284-9.
- Partensky, F., Hess, W. R. and Vaulot, D. (1999). *Prochlorococcus*, a marine photosynthetic prokaryote of global significance. *Microbiol Mol Biol Rev* **63**, 106-27.
- Patrick, J. E. and Kearns, D. B. (2008). MinJ (YvjD) is a topological determinant of cell division in *Bacillus subtilis*. *Mol Microbiol* **70**, 1166-79.
- Pease, P. J., Levy, O., Cost, G. J., Gore, J., Ptacin, J. L., Sherratt, D., Bustamante, C. and Cozzarelli, N. R. (2005). Sequence-directed DNA translocation by purified FtsK. *Science* **307**, 586-90.
- Peters, P. C., Migocki, M. D., Thoni, C. and Harry, E. J. (2007). A new assembly pathway for the cytokinetic Z ring from a dynamic helical structure in vegetatively growing cells of *Bacillus subtilis*. *Mol Microbiol* **64**, 487-99.
- Pichoff, S. and Lutkenhaus, J. (2002). Unique and overlapping roles for ZipA and FtsA in septal ring assembly in *Escherichia coli*. *Embo J* **21**, 685-93.
- Pichoff, S. and Lutkenhaus, J. (2005). Tethering the Z ring to the membrane through a conserved membrane targeting sequence in FtsA. *Mol Microbiol* **55**, 1722-34.
- Pichoff, S. and Lutkenhaus, J. (2007a). Identification of a region of FtsA required for interaction with FtsZ. *Mol Microbiol* **64**, 1129-38.
- Pichoff, S. and Lutkenhaus, J. (2007b). Overview of cell shape: cytoskeletons shape bacterial cells. *Curr Opin Microbiol* **10**, 601-5.
- Piette, A., Fraipont, C., Den Blaauwen, T., Aarsman, M. E., Pastoret, S. and Nguyen-Disteche, M. (2004). Structural determinants required to target penicillin-binding protein 3 to the septum of *Escherichia coli*. *J Bacteriol* **186**, 6110-7.
- Pinho, M. G. and Errington, J. (2005). Recruitment of penicillin-binding protein PBP2 to the division site of *Staphylococcus aureus* is dependent on its transpeptidation substrates. *Mol Microbiol* **55**, 799-807.
- Poncelet, M., Cassier-Chauvat, C., Leschelle, X., Bottin, H. and Chauvat, F. (1998). Targeted deletion and mutational analysis of the essential (2Fe-2S) plant-like ferredoxin in *Synechocystis* PCC6803 by plasmid shuffling. *Mol Microbiol* **28**, 813-21.
- Popham, D. L. and Young, K. D. (2003). Role of penicillin-binding proteins in bacterial cell morphogenesis. *Curr Opin Microbiol* **6**, 594-9.

- Priyadarshini, R., Popham, D. L. and Young, K. D. (2006). Daughter cell separation by penicillin-binding proteins and peptidoglycan amidases in *Escherichia coli*. *J Bacteriol* **188**, 5345-55.
- Raskin, D. M. and de Boer, P. A. (1997). The MinE ring: an FtsZ-independent cell structure required for selection of the correct division site in *E. coli*. *Cell* **91**, 685-94.
- Raskin, D. M. and de Boer, P. A. (1999). MinDE-dependent pole-to-pole oscillation of division inhibitor MinC in *Escherichia coli*. *J Bacteriol* **181**, 6419-24.
- RayChaudhuri, D. (1999). ZipA is a MAP-Tau homolog and is essential for structural integrity of the cytokinetic FtsZ ring during bacterial cell division. *Embo J* **18**, 2372-83.
- Real, G., Autret, S., Harry, E. J., Errington, J. and Henriques, A. O. (2005). Cell division protein DivIB influences the Spo0J/Soj system of chromosome segregation in *Bacillus subtilis*. *Mol Microbiol* **55**, 349-67.
- Recchia, G. D., Aroyo, M., Wolf, D., Blakely, G. and Sherratt, D. J. (1999). FtsK-dependent and -independent pathways of Xer site-specific recombination. *Embo J* **18**, 5724-34.
- Reddy, M. (2007). Role of FtsEX in cell division of *Escherichia coli*: viability of ftsEX mutants is dependent on functional SufI or high osmotic strength. *J Bacteriol* **189**, 98-108.
- Richardson, D. L., Reed, R. H. and Stewart, W. D. P. (1983). *Synechocystis* PCC6803: a euryhaline cyanobacterium. *FEMS Microbiol Lett* **18**, 99-102.
- Rigden, M. D., Baier, C., Ramirez-Arcos, S., Liao, M., Wang, M. and Dillon, J. A. (2008). Identification of the coiled-coil domains of *Enterococcus faecalis* DivIVA that mediate oligomerization and their importance for biological function. *J Biochem* **144**, 63-76.
- Rippka, R., Deruelles, J., Waterbury, J., Herdman, M. and Stanier, R. (1979). Generic assignments, strains histories and properties of pure culture of cyanobacteria. *Journal of genetic and microbiology* **111**, 1-61.
- Rivas, G., Lopez, A., Mingorance, J., Ferrandiz, M. J., Zorrilla, S., Minton, A. P., Vicente, M. and Andreu, J. M. (2000). Magnesium-induced linear self-association of the FtsZ bacterial cell division protein monomer. The primary steps for FtsZ assembly. *J Biol Chem* **275**, 11740-9.
- Robinson, A. C., Kenan, D. J., Hatfull, G. F., Sullivan, N. F., Spiegelberg, R. and Donachie, W. D. (1984). DNA sequence and transcriptional organization of essential cell

- division genes *ftsQ* and *ftsA* of *Escherichia coli*: evidence for overlapping transcriptional units. *J Bacteriol* **160**, 546-55.
- Robson, S. A. and King, G. F. (2006). Domain architecture and structure of the bacterial cell division protein DivIB. *Proc Natl Acad Sci U S A* **103**, 6700-5.
- Robson, S. A., Michie, K. A., Mackay, J. P., Harry, E. and King, G. F. (2002). The *Bacillus subtilis* cell division proteins FtsL and DivIC are intrinsically unstable and do not interact with one another in the absence of other septasomal components. *Mol Microbiol* **44**, 663-74.
- Rowland, S. L., Katis, V. L., Partridge, S. R. and Wake, R. G. (1997). DivIB, FtsZ and cell division in *Bacillus subtilis*. *Mol Microbiol* **23**, 295-302.
- Rueda, S., Vicente, M. and Mingorance, J. (2003). Concentration and assembly of the division ring proteins FtsZ, FtsA, and ZipA during the *Escherichia coli* cell cycle. *J Bacteriol* **185**, 3344-51.
- Sakr, S., Jeanjean, R., Zhang, C. C. and Arcondeguy, T. (2006a). Inhibition of cell division suppresses heterocyst development in *Anabaena* sp. strain PCC 7120. *J Bacteriol* **188**, 1396-404.
- Sakr, S., Thyssen, M., Denis, M. and Zhang, C. C. (2006b). Relationship among several key cell cycle events in the developmental cyanobacterium *Anabaena* sp. strain PCC 7120. *J Bacteriol* **188**, 5958-65.
- Saleh, A. Z., Yamanaka, K., Niki, H., Ogura, T., Yamazoe, M. and Hiraga, S. (1996). Carboxyl terminal region of the MukB protein in *Escherichia coli* is essential for DNA binding activity. *FEMS Microbiol Lett* **143**, 211-6.
- Sapay, N., Guerneur, Y. and Deleage, G. (2006). Prediction of amphipathic in-plane membrane anchors in monotopic proteins using a SVM classifier. *BMC Bioinformatics* **7**, 255.
- Sato, M., Mogi, Y., Nishikawa, T., Miyamura, S., Nagumo, T. and Kawano, S. (2009). The dynamic surface of dividing cyanobacteria and ultrastructure of the region directly below the surface in *Cyanophora paradoxa*. *Planta* **229**, 781-91.
- Sauvage, E., Kerff, F., Terrak, M., Ayala, J. A. and Charlier, P. (2008). The penicillin-binding proteins: structure and role in peptidoglycan biosynthesis. *FEMS Microbiol Rev* **32**, 234-58.
- Scheffers, D. J., den Blaauwen, T. and Driessen, A. J. (2000). Non-hydrolysable GTP-gamma-S stabilizes the FtsZ polymer in a GDP-bound state. *Mol Microbiol* **35**, 1211-9.

- Scheffers, D. J. and Pinho, M. G. (2005). Bacterial cell wall synthesis: new insights from localization studies. *Microbiol Mol Biol Rev* **69**, 585-607.
- Schmidt, K. L., Peterson, N. D., Kustus, R. J., Wissel, M. C., Graham, B., Phillips, G. J. and Weiss, D. S. (2004). A predicted ABC transporter, FtsEX, is needed for cell division in *Escherichia coli*. *J Bacteriol* **186**, 785-93.
- Shiomi, D. and Margolin, W. (2007). The C-terminal domain of MinC inhibits assembly of the Z ring in *Escherichia coli*. *J Bacteriol* **189**, 236-43.
- Siddiqui, R. A., Hoischen, C., Holst, O., Heinze, I., Schlott, B., Gumpert, J., Diekmann, S., Grosse, F. and Platzer, M. (2006). The analysis of cell division and cell wall synthesis genes reveals mutationally inactivated ftsQ and mraY in a protoplast-type L-form of *Escherichia coli*. *FEMS Microbiol Lett* **258**, 305-11.
- Sievers, J. and Errington, J. (2000a). Analysis of the essential cell division gene ftsL of *Bacillus subtilis* by mutagenesis and heterologous complementation. *J Bacteriol* **182**, 5572-9.
- Sievers, J. and Errington, J. (2000b). The *Bacillus subtilis* cell division protein FtsL localizes to sites of septation and interacts with DivIC. *Mol Microbiol* **36**, 846-55.
- Singh, J. K., Makde, R. D., Kumar, V. and Panda, D. (2007). A membrane protein, EzrA, regulates assembly dynamics of FtsZ by interacting with the C-terminal tail of FtsZ. *Biochemistry* **46**, 11013-22.
- Singh, J. K., Makde, R. D., Kumar, V. and Panda, D. (2008). SepF increases the assembly and bundling of FtsZ polymers and stabilizes FtsZ protofilaments by binding along its length. *J Biol Chem*.
- Small, E., Marrington, R., Rodger, A., Scott, D. J., Sloan, K., Roper, D., Dafforn, T. R. and Addinall, S. G. (2007). FtsZ polymer-bundling by the *Escherichia coli* ZapA orthologue, YgfE, involves a conformational change in bound GTP. *J Mol Biol* **369**, 210-21.
- Stefanova, M. E., Tomberg, J., Olesky, M., Holtje, J. V., Gutheil, W. G. and Nicholas, R. A. (2003). *Neisseria gonorrhoeae* penicillin-binding protein 3 exhibits exceptionally high carboxypeptidase and beta-lactam binding activities. *Biochemistry* **42**, 14614-25.
- Steiner, W. W. and Kuempel, P. L. (1998). Cell division is required for resolution of dimer chromosomes at the dif locus of *Escherichia coli*. *Mol Microbiol* **27**, 257-68.
- Stricker, J., Maddox, P., Salmon, E. D. and Erickson, H. P. (2002). Rapid assembly dynamics of the *Escherichia coli* FtsZ-ring demonstrated by fluorescence recovery after photobleaching. *Proc Natl Acad Sci U S A* **99**, 3171-5.

- Summerfield, T. C. and Sherman, L. A. (2008). Global transcriptional response of the alkali-tolerant cyanobacterium *Synechocystis* sp. strain PCC 6803 to a pH 10 environment. *Appl Environ Microbiol* **74**, 5276-84.
- Sun, Q. and Margolin, W. (1998). FtsZ dynamics during the division cycle of live *Escherichia coli* cells. *J Bacteriol* **180**, 2050-6.
- Svrcek, C. and Smith, D. W. (2004). Cyanobacteria toxins and the current state of knowledge on water treatment options. *Journal of environment of england*.
- Tamagnini, P., Leitao, E., Oliveira, P., Ferreira, D., Pinto, F., Harris, D. J., Heidorn, T. and Lindblad, P. (2007). Cyanobacterial hydrogenases: diversity, regulation and applications. *FEMS Microbiol Rev* **31**, 692-720.
- Tamaki, S., Matsuzawa, H. and Matsushashi, M. (1980). Cluster of *mrdA* and *mrdB* genes responsible for the rod shape and mecillinam sensitivity of *Escherichia coli*. *J Bacteriol* **141**, 52-7.
- Tavares, J. R., de Souza, R. F., Meira, G. L. and Gueiros-Filho, F. J. (2008). Cytological characterization of YpsB, a novel component of the *Bacillus subtilis* divisome. *J Bacteriol* **190**, 7096-107.
- Thanedar, S. and Margolin, W. (2004). FtsZ exhibits rapid movement and oscillation waves in helix-like patterns in *Escherichia coli*. *Curr Biol* **14**, 1167-73.
- Tiyanont, K., Doan, T., Lazarus, M. B., Fang, X., Rudner, D. Z. and Walker, S. (2006). Imaging peptidoglycan biosynthesis in *Bacillus subtilis* with fluorescent antibiotics. *Proc Natl Acad Sci U S A* **103**, 11033-8.
- Tzagoloff, H. and Novick, R. (1977). Geometry of cell division in *Staphylococcus aureus*. *J Bacteriol* **129**, 343-50.
- Ueki, M., Wachi, M., Jung, H. K., Ishino, F. and Matsushashi, M. (1992). *Escherichia coli* *mraR* gene involved in cell growth and division. *J Bacteriol* **174**, 7841-3.
- Valladares, A., Montesinos, M. L., Herrero, A. and Flores, E. (2002). An ABC-type, high-affinity urea permease identified in cyanobacteria. *Mol Microbiol* **43**, 703-15.
- van den Ent, F. and Lowe, J. (2000). Crystal structure of the cell division protein FtsA from *Thermotoga maritima*. *Embo J* **19**, 5300-7.
- van den Ent, F., Vinkenvleugel, T. M., Ind, A., West, P., Veprintsev, D., Nanninga, N., den Blaauwen, T. and Lowe, J. (2008). Structural and mutational analysis of the cell division protein FtsQ. *Mol Microbiol* **68**, 110-23.
- Varma, A., de Pedro, M. A. and Young, K. D. (2007). FtsZ directs a second mode of peptidoglycan synthesis in *Escherichia coli*. *J Bacteriol* **189**, 5692-704.

- Varma, A. and Young, K. D. (2004). FtsZ collaborates with penicillin binding proteins to generate bacterial cell shape in *Escherichia coli*. *J Bacteriol* **186**, 6768-74.
- Vats, P., Shih, Y. L. and Rothfield, L. (2009). Assembly of the MreB-associated cytoskeletal ring of *E. coli*. *Mol Microbiol*.
- Vaughan, S., Wickstead, B., Gull, K. and Addinall, S. G. (2004). Molecular evolution of FtsZ protein sequences encoded within the genomes of archaea, bacteria, and eukaryota. *J Mol Evol* **58**, 19-29.
- Vicente, M. and Garcia-Ovalle, M. (2007). Making a point: the role of DivIVA in streptococcal polar anatomy. *J Bacteriol* **189**, 1185-8.
- Vicente, M. and Rico, A. I. (2006). The order of the ring: assembly of *Escherichia coli* cell division components. *Mol Microbiol* **61**, 5-8.
- Vitha, S., Froehlich, J. E., Koksharova, O., Pyke, K. A., van Erp, H. and Osteryoung, K. W. (2003). ARC6 is a J-domain plastid division protein and an evolutionary descendant of the cyanobacterial cell division protein Ftn2. *Plant Cell* **15**, 1918-33.
- Vollmer, W., Joris, B., Charlier, P. and Foster, S. (2008). Bacterial peptidoglycan (murein) hydrolases. *FEMS Microbiol Rev* **32**, 259-86.
- Wadsworth, K. D., Rowland, S. L., Harry, E. J. and King, G. F. (2008). The divisomal protein DivIB contains multiple epitopes that mediate its recruitment to incipient division sites. *Mol Microbiol* **67**, 1143-55.
- Wang, L. and Lutkenhaus, J. (1998). FtsK is an essential cell division protein that is localized to the septum and induced as part of the SOS response. *Mol Microbiol* **29**, 731-40.
- Wang, X., Huang, J., Mukherjee, A., Cao, C. and Lutkenhaus, J. (1997). Analysis of the interaction of FtsZ with itself, GTP, and FtsA. *J Bacteriol* **179**, 5551-9.
- Westling-Haggstrom, B., Elmros, T., Normark, S. and Winblad, B. (1977). Growth pattern and cell division in *Neisseria gonorrhoeae*. *J Bacteriol* **129**, 333-42.
- Williams, P. G. (2009). Panning for chemical gold: marine bacteria as a source of new therapeutics. *Trends Biotechnol* **27**, 45-52.
- World-Health-Organisation (1999). *toxic cyanobacteria in water*.
- Wu, L. J. and Errington, J. (1997). Septal localization of the SpoIIIE chromosome partitioning protein in *Bacillus subtilis*. *Embo J* **16**, 2161-9.
- Wu, L. J. and Errington, J. (2004). Coordination of cell division and chromosome segregation by a nucleoid occlusion protein in *Bacillus subtilis*. *Cell* **117**, 915-25.

- Wu, L. J., Franks, A. H. and Wake, R. G. (1995). Replication through the terminus region of the *Bacillus subtilis* chromosome is not essential for the formation of a division septum that partitions the DNA. *J Bacteriol* **177**, 5711-5.
- Yamanaka, K., Mitani, T., Feng, J., Ogura, T., Niki, H. and Hiraga, S. (1994). Two mutant alleles of mukB, a gene essential for chromosome partition in *Escherichia coli*. *FEMS Microbiol Lett* **123**, 27-31.
- Yamazoe, M., Onogi, T., Sunako, Y., Niki, H., Yamanaka, K., Ichimura, T. and Hiraga, S. (1999). Complex formation of MukB, MukE and MukF proteins involved in chromosome partitioning in *Escherichia coli*. *Embo J* **18**, 5873-84.
- Yan, K., Pearce, K. H. and Payne, D. J. (2000). A conserved residue at the extreme C-terminus of FtsZ is critical for the FtsA-FtsZ interaction in *Staphylococcus aureus*. *Biochem Biophys Res Commun* **270**, 387-92.
- Yang, J. C., Van Den Ent, F., Neuhaus, D., Brevier, J. and Lowe, J. (2004). Solution structure and domain architecture of the divisome protein FtsN. *Mol Microbiol* **52**, 651-60.
- Yang, Y., Glynn, J. M., Olson, B. J., Schmitz, A. J. and Osteryoung, K. W. (2008). Plastid division: across time and space. *Curr Opin Plant Biol* **11**, 577-84.
- Yates, J., Aroyo, M., Sherratt, D. J. and Barre, F. X. (2003). Species specificity in the activation of Xer recombination at dif by FtsK. *Mol Microbiol* **49**, 241-9.
- Yu, X. C., Tran, A. H., Sun, Q. and Margolin, W. (1998). Localization of cell division protein FtsK to the *Escherichia coli* septum and identification of a potential N-terminal targeting domain. *J Bacteriol* **180**, 1296-304.
- Zhang, C. C., Huguenin, S. and Friry, A. (1995). Analysis of genes encoding the cell division protein FtsZ and a glutathione synthetase homologue in the cyanobacterium *Anabaena* sp. PCC 7120. *Res Microbiol* **146**, 445-55.
- Zhang, C. C., Laurent, S., Sakr, S., Peng, L. and Bedu, S. (2006). Heterocyst differentiation and pattern formation in cyanobacteria: a chorus of signals. *Mol Microbiol* **59**, 367-75.
- Zhang, W., Du, Y., Khudyakov, I., Fan, Q., Gao, H., Ning, D., Wolk, C. P. and Xu, X. (2007). A gene cluster that regulates both heterocyst differentiation and pattern formation in *Anabaena* sp. strain PCC 7120. *Mol Microbiol* **66**, 1429-43.