

> Dans le cadre de l'unité d'enseignement « Rédiger en sciences » proposée par l'université d'Aix-Marseille, les étudiants du Master 2 de microbiologie se sont confrontés aux exigences de l'écriture scientifique.

Quatre thématiques leur ont été proposées : les virus géants, les systèmes de sécrétion, la motilité bactérienne et la réparation des protéines oxydées. Après un travail préparatoire effectué avec l'équipe pédagogique et les auteurs des publications originales, les étudiants, organisés en groupes de trois ou quatre, ont rédigé une Nouvelle soulignant les résultats majeurs et l'originalité des quatre articles étudiés. Complété par un entretien avec les chercheurs auteurs de ces articles, l'ensemble offre un éclairage original sur la compréhension du vivant dans le domaine de la microbiologie. <

Partenariat médecine/sciences - Écoles doctorales - Masters (28)

**L'actualité scientifique vue
par les étudiants du Master 2
de microbiologie d'Aix-Marseille
Université (AMU), Parcours Microbiologie
Intégrative et Fondamentale (MIF), Unité
d'Enseignement « Rédiger en sciences »**



Responsable de l'Unité d'Enseignement

Laurent Aussel

Équipe pédagogique

Amel Latifi (professeur, Aix-Marseille Université) latifi@imm.cnrs.fr

Laurent Aussel (maître de conférences, Aix-Marseille Université)

aussel@imm.cnrs.fr

Site web <https://bio-sciences.univ-amu.fr/master-microbio>

Série coordonnée par Sophie Sibénil.

NOUVELLE

Les bactéries, organismes de choix pour comprendre les mécanismes de réparation des protéines oxydées

Marianne Broc^{1*}, Mohand Hachemane^{1*}, Marine Novelli^{1*},
Mathieu Sourice^{1*}, Laurent Aussel²

> Tous les organismes vivants sont exposés à l'oxygène et ses dérivés : les formes réactives de l'oxygène (FRO), dont l'anion superoxyde ($O_2^{\cdot-}$), le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et le radical hydroxyle (OH^{\cdot}). L'homéostasie de ces FRO peut être contrôlée par des molécules antioxydantes (glutathion, vitamines C et E) ou par des enzymes (catalase, superoxyde dismutase ou peroxydase)

capables de chélater ou de dégrader ces FRO, diminuant ainsi leur concentration intracellulaire. Le stress oxydant résulte d'un déséquilibre entre la production des FRO et leur dégradation. La conséquence majeure de ce phénomène est l'oxydation des constituants cellulaires – ADN, protéines et lipides – pouvant aboutir à une modification structurale et/ou une perte de leurs activités biologiques. Les protéines sont les biomolécules les plus représentées dans les cellules, ce qui

en fait des cibles privilégiées du stress oxydant. Six acides aminés y sont particulièrement sensibles. Les résidus lysine, arginine, thréonine et proline peuvent subir une carbonylation irréversible sur leur chaîne latérale. Les résidus cystéine et méthionine (Met) peuvent, eux, être convertis de manière réversible en cystéine et méthionine sulfoxyde (MetSO). La réduction des MetSO en Met est assurée par les méthionine sulfoxyde réductases (Msr), des enzymes conservées chez

¹Master 2 Microbiologie Intégrative et Fondamentale, Aix-Marseille Université, Marseille, France.

²Aix-Marseille Université, CNRS, LCB UMR, 7283, IMM, Marseille, France.

marianne.broc@etu.univ-amu.fr

mohand-said.hachemane@etu.univ-amu.fr

marine.novelli@etu.univ-amu.fr

mathieu.sourice@etu.univ-amu.fr

aussel@imm.cnrs.fr

*Ces quatre auteurs ont de façon égale participé au travail.

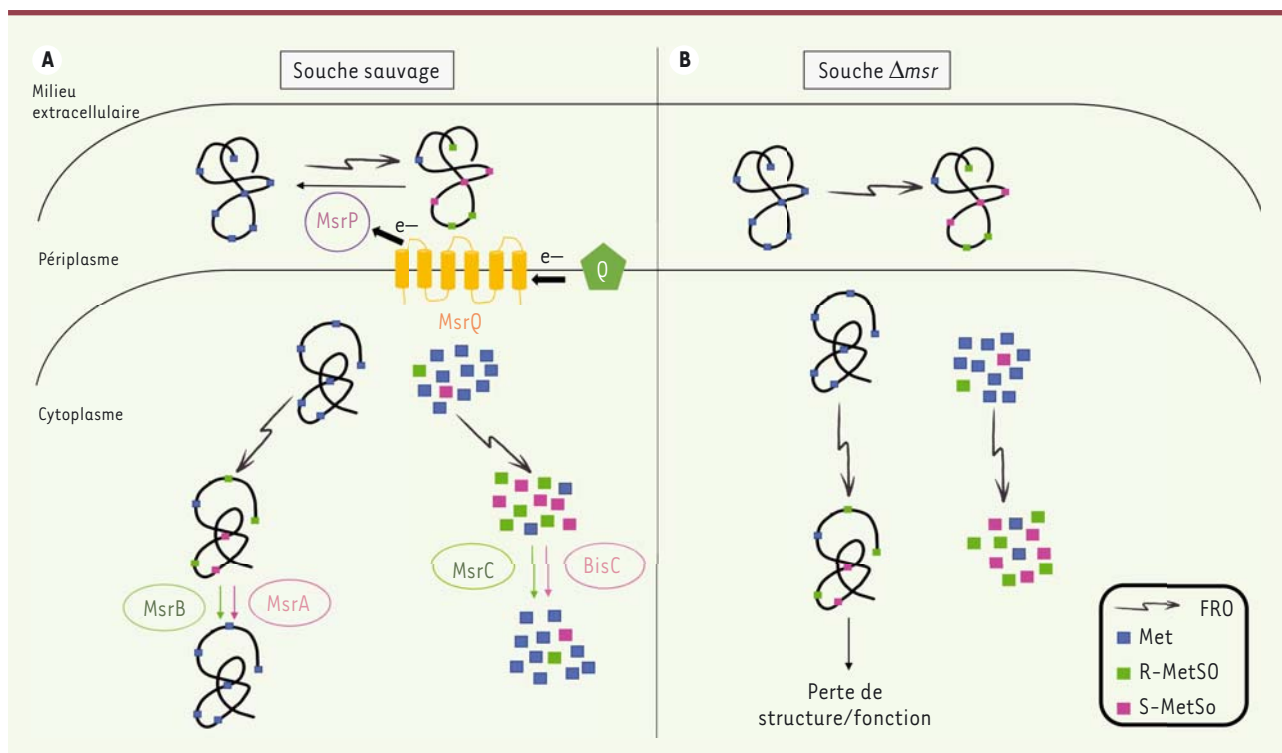


Figure 1. Réparation des méthionines oxydées par le système Msr. Les formes réactives de l'oxygène (FRO) transforment les résidus méthionine (Met) en méthionine sulfoxyde (MetSO). **A.** Dans le périplasma, le système MsrPQ réduit les MetSO sans diastéréospécificité. Dans le cytoplasme, MsrA et BisC réduisent respectivement les MetSO protéiques et libres sous forme S tandis que MsrB et MsrC réduisent les formes R. **B.** En l'absence de gènes codant les enzymes Msr, les Met oxydées ne sont pas réparées. Q : quinones ; e⁻ : électrons.

tous les organismes vivants. Leur rôle apparaît donc primordial pour la cellule puisqu'elles assurent une fonction antioxydante en réparant les protéines oxydées. D'après l'axiome de Jacques Monod, ce qui est vrai pour la bactérie est vrai pour l'éléphant. L'étude du système Msr procaryote représente donc une étape clé dans la caractérisation des mécanismes de défense contre le stress oxydant et ouvre de nombreuses perspectives quant à la compréhension de ces mécanismes chez l'homme.

***Escherichia coli*, un organisme modèle pour l'étude des Msr**

Escherichia coli est la bactérie la plus utilisée dans les laboratoires de recherche : sa croissance est rapide, son génome a été séquencé et les manipulations génétiques y sont simples et maîtrisées. Le système Msr d'*E. coli* a ainsi fait l'objet de nombreux travaux

de recherche qui ont permis l'identification d'enzymes impliquées dans la réparation des protéines oxydées. À ce jour, cinq enzymes dotées d'une fonction Msr ont été caractérisées. Dans le cytoplasme, deux d'entre elles agissent sur les MetSO libres (MsrC et BisC) et deux autres sur les résidus MetSO présents au sein des protéines (MsrA et MsrB). Chez les bactéries à Gram négatif, une Msr supplémentaire est localisée dans le périplasma : MsrP (Figure 1).

Les Msr cytoplasmiques, des procaryotes aux eucaryotes

MsrA fut la première enzyme Msr identifiée par les travaux de Nathan Brot en 1981 [1]. Depuis, des études ont permis de mieux caractériser sa structure et son mécanisme d'action [2]. Lors de la réparation d'une MetSO, le site actif de l'enzyme est oxydé, puis réduit par une enzyme, la thiorédoxine. En 2001,

l'équipe de Frédéric Barras, au Laboratoire de Chimie bactérienne à Marseille, a identifié chez *E. coli* une nouvelle enzyme possédant une activité Msr nommée MsrB [3]. Cette étude a démontré que l'action de MsrA n'était pas suffisante pour réparer la totalité des méthionines oxydées des protéines et que les enzymes MsrA et MsrB avaient des effets complémentaires. L'oxydation des Met en MetSO aboutit à la formation stochastique de deux diastéréoisomères R et S via le positionnement asymétrique de l'atome de soufre. Ainsi, la réparation de tous les résidus MetSO implique la prise en charge individuelle de chacune des deux formes. MsrA n'agissant que sur les formes S, la présence de MsrB est donc indispensable au processus complet, permettant ainsi de réparer également les formes R [3] (Figure 1). En 2004, l'équipe marseillaise a démontré, chez *E. coli*, que la protéine Ffh (*fifty-four homolog*), conservée dans

Entretien avec Benjamin Ezraty mené par les auteurs de la Nouvelle

Benjamin Ezraty est chargé de recherche au CNRS. Il a contribué à la découverte de plusieurs enzymes importantes pour la réparation des méthionines oxydées. Il a également étudié l'implication de la teneur en fer dans la résistance aux antibiotiques, travail pour lequel il a reçu le prix AXA de l'académie des sciences en 2014. Il dirige désormais une équipe de huit personnes au Laboratoire de Chimie bactérienne (LCB) à Marseille, qui s'intéresse aux systèmes de réparation des protéines oxydées.



Qu'est-ce qui vous a amené à travailler sur les Msr, les enzymes impliquées dans la réparation des méthionines oxydées ?

Benjamin Ezraty : C'est au cours d'un stage effectué lors de ma deuxième année de master que j'ai été confronté pour la première fois à ces enzymes. À partir d'un crible génétique, MsrA a été identifiée comme étant un facteur de virulence de la bactérie phytopathogène *Erwinia chrysanthemi*. Dès lors, les Msr ont été étudiées au sein du LCB et j'ai choisi de prolonger mes recherches sur ce sujet lors de ma thèse.

Quelles sont les plus grandes avancées de votre carrière sur le projet Msr ?

BE : Sans conteste, il s'agit de la découverte de MsrB chez la bactérie modèle *Escherichia coli*. Lors de ma thèse, je me suis intéressé à une protéine de fonction inconnue fusionnée à MsrA chez certains organismes. En caractérisant son activité biologique, j'ai découvert qu'elle était complémentaire à celle de MsrA et que leurs actions conjointes permettaient de réparer une protéine oxydée dans sa totalité. Depuis, cette découverte a été prolongée puisque ces Msr ont été caractérisées chez tous les êtres vivants, y compris chez l'homme. D'autres questionnements ont alors rapidement vu le jour : pourquoi ce système de réparation est-il présent ? Quelles sont les protéines réparées par les Msr ? Sont-elles toutes réparées ? L'identification du système SRP (particule de reconnaissance du signal) comme substrat des Msr fut également une belle découverte à mes yeux puisqu'il s'agit d'un système essentiel et ubiquitaire impliqué dans l'adressage et la translocation des protéines. Enfin, la troisième découverte qui me tient à cœur est l'identification de MsrP qui est périplasmique et uniquement présente chez les bactéries à Gram négatif. Il s'agit d'une belle avancée dans le domaine de la microbiologie, qui s'est soldée par une jolie publication.

Comment avez-vous vécu votre passage de chercheur à chef d'équipe ? Quels changements cela a-t-il impliqué pour vous ?

BE : J'aime prendre des responsabilités et être à l'initiative de projets. Avant d'être chef d'équipe, j'avais la responsabilité de projets scientifiques que je portais au sein d'un groupe dont je n'étais pas responsable. Désormais, l'aspect « ressources humaines » est plus présent : il faut gérer les budgets, les tâches administratives et essayer de faire travailler les uns avec les autres afin de faire avancer l'équipe. Être chef d'équipe, c'est aussi savoir gérer ce qui nous préoccupe le plus : l'avenir de nos étudiants. Par exemple, il faut accompagner les doctorants au bout de leur thèse – avec si possible de belles publications – pour

qu'ils puissent valoriser cette expérience et trouver un emploi. De nos jours, ce n'est pas évident. Il faut donc faire au mieux pour que tous les membres de l'équipe puissent tirer leur épingle du jeu. Il y a aussi une pression pour la pérennité de l'équipe et les sujets d'étude : c'est quelque chose qui me tient à cœur. Être chef d'équipe, c'est une aventure qu'il faut vivre pleinement. Il y a des moments plus durs que d'autres, mais il faut avoir la « niaque ». Je pense que la clé de la réussite, c'est de ne rien lâcher, tel un sportif de haut niveau !

Quels sont vos projets pour l'avenir ?

BE : Plusieurs étapes importantes attendent mon équipe. D'abord la concrétisation d'études qui ont été initiées il y a plusieurs années, avec l'objectif de les publier dans des journaux importants. Ensuite, deux thèses vont bientôt arriver à leur terme et il faut que leur contenu soit de bon niveau pour que les étudiantes puissent publier leurs travaux. Enfin, il y a les demandes de nouveaux financements, car certains de mes contrats approchent de leur fin et il est important de renouveler les apports d'argent. L'organisation de congrès, c'est aussi quelque chose que je fais beaucoup. Au CNRS, je suis responsable – avec Mireille Ansaldi – de l'École thématique de microbiologie, organisée tous les quatre ans. Il y a également le congrès « *Microbiology at a glance* » qui repose sur un format original en donnant la parole aux étudiants en fin de thèse. Mon objectif est de pérenniser cet événement afin que notre unité soit reconnue à l'échelle internationale. Évidemment, plusieurs éditions seront nécessaires pour cela, même si l'on commence à avoir une certaine renommée.

Que pensez-vous de la situation actuelle concernant la recherche scientifique en France ?

BE : On évolue dans une société où l'on se tourne de plus en plus vers soi-même et où l'on manque de vision collective. Certains ne voient pas l'intérêt de la recherche car ils ne réfléchissent pas sur le long-terme. Je pense que la recherche scientifique souffre de cette vision. Les politiques ont besoin de résultats à court terme. C'est compliqué et les chercheurs tentent d'intégrer cette complexité à leur mode de fonctionnement. Comparé à certains pays, plusieurs regrettent les faibles moyens alloués à la recherche. Je ne peux pas dire que c'est faux mais je pense qu'il n'y a pas ça. Il faut aussi que notre communauté fasse des efforts pour communiquer vers le grand public afin de montrer ce que l'on fait au quotidien.

Quels sont pour vous les points forts et les points faibles de la France en matière de recherche scientifique ?

BE : Nous manquons d'argent, de moyens, de visibilité et peut-être même de technologies de pointe. Mais l'aspect positif, c'est que les doctorants que l'on forme en France trouvent facilement du travail à l'étranger et que les laboratoires sont généralement ravis de les recevoir. Nos étudiants sont bien formés et c'est une fierté pour la recherche française. Il faut maintenant faire en sorte que ces étudiants, partis à l'étranger, puissent revenir en France pour s'y établir. Après, il y a de très bons laboratoires en France comme à l'étranger.

Un mot pour la fin ?

BE : Je vis donc je rouille. Mais bon, j'ai des systèmes de défense.



tous les règnes du vivant, était un substrat des Msr *in vivo*. Cette protéine, liée à un ARN 4,5S, forme la particule de reconnaissance du signal (SRP) impliquée dans l'adressage des protéines aux membranes. Les auteurs ont montré *in vitro* que l'oxydation de Ffh entraînait une perte de liaison à l'ARN 4,5S. En ajoutant MsrA et MsrB, ils ont pu restaurer la capacité de Ffh à lier l'ARN en réduisant les MetSO de la protéine oxydée en Met [4]. Ils ont ensuite démontré *in vivo* que l'adressage de la protéine Ffh à la membrane interne n'était pas possible dans une souche dépourvue des gènes *msrA* et *msrB*. La complémentation d'un des deux gènes est néanmoins suffisante pour restaurer l'adressage de la protéine, suggérant qu'une réparation partielle des méthionines oxydées est suffisante pour rétablir l'activité de Ffh [4]. Dans cette étude, il a donc été montré pour la première fois que la protéine Ffh pouvait être inactivée par les FRO et réparée par le système MsrA/B, soulignant ainsi l'importance de ce dernier chez les procaryotes [4]. Ffh étant ubiquitaire, cela suggère que le système Msr pourrait jouer un rôle important chez les eucaryotes. Dans différents travaux, il a été rapporté que des souris dont le gène *msrA* avait été inactivé étaient plus vulnérables au stress oxydant [5] et présentaient des phénotypes similaires à ceux observés dans des pathologies neurodégénératives, comme la maladie d'Alzheimer [6]. Paradoxalement, une étude publiée par Lo Lai et ses collaborateurs en 2019, démontre que des souris dépourvues de la totalité des gènes codant les Msr résistaient mieux au stress oxydant que des souris sauvages [7]. Ce résultat paradoxal reste, à ce jour, inexplicé. L'absence totale d'activité Msr chez ces souris suggère qu'un autre mécanisme de lutte contre le stress oxydant pourrait exister chez ces organismes, se substituant au système Msr lorsque celui-ci ne fonctionne pas. Étonnamment, il semblerait que cette « voie alternative » soit plus efficace que le système Msr lui-même.

Msr périplasmique, une nouvelle cible thérapeutique ?

Le périplasma des bactéries est le premier compartiment cellulaire à être touché par les FRO exogènes qui peuvent provenir de différentes sources. Les pathogènes intracellulaires sont en effet soumis aux FRO qui sont générées par le système immunitaire lors de l'infection. Les bactéries présentes dans l'environnement sont quant à elles exposées à d'autres sources d'agents oxydants, telles que les métaux lourds ou l'eau de javel (HOCl). Chez les bactéries à Gram négatif, il existe un système qui permet de maintenir l'homéostasie des protéines dans le compartiment périplasmique. Découvert en 2015 chez *E. coli*, il se compose de deux protéines codées au sein du même opéron, MsrP, une molybdo-enzyme (enzyme nécessitant le molybdène comme co-facteur pour son activité biologique) et MsrQ, une protéine de membrane interne [8]. Le rôle de cette dernière est de régénérer MsrP en lui transférant des électrons issus des quinones de la chaîne respiratoire. Le système MsrPQ se distingue des autres par sa localisation périplasmique et sa régénération thioredoxine-indépendante. Il s'affranchit également de la diastéréospécificité en s'attaquant simultanément aux MetSO sous forme R et S. Chez certains pathogènes tels que *Campilobacter jejuni*, MsrP semble être impliquée dans la virulence [9], en permettant à la souche de lutter contre les FRO générées par les défenses immunitaires. Au vu de ses caractéristiques, considérer MsrPQ comme une potentielle cible thérapeutique est envisageable [10] (→), (→) Voir la Nouvelle de B. Ezraty et F. Barras, *m/s* n° 6-7, juin-juillet 2016, page 542

l'avantage étant sa localisation périplasmique et sa présence exclusive chez les bactéries à Gram négatif. Cependant, l'inactivation de MsrPQ pourrait être insuffisante du fait de la présence des enzymes Msr cytoplasmiques. Ainsi, il serait intéressant d'étudier l'effet de la délétion de tous les systèmes Msr sur la virulence de

certaines souches pathogènes. La mise en place d'un procédé thérapeutique s'avère néanmoins complexe du fait de la multitude des cibles à atteindre. ♦ **Bacteria, model organisms to investigate the repair mechanisms of oxidized proteins**

LIENS D'INTÉRÊT

Les auteurs déclarent n'avoir aucun lien d'intérêt concernant les données publiées dans cet article.

RÉFÉRENCES

1. Brot N, Weissbach L, Werth J, et al. Enzymatic reduction of protein-bound methionine sulfoxide. *Proc Natl Acad Sci USA* 1981 ; 78 : 2155-8.
2. Coudevylle N, Antoine M, Bouquet-Bonnet S, et al. Solution structure and backbone dynamics of the reduced form and an oxidized form of *E. coli* methionine sulfoxide reductase A (MsrA): structural insight of the MsrA catalytic cycle. *J Mol Biol* 2007 ; 366: 193-206.
3. Grimaud R, Ezraty B, Mitchell JK, et al. Repair of oxidized proteins. Identification of a new methionine sulfoxide reductase. *J Biol Chem* 2001 ; 276 : 48915-20.
4. Ezraty B, Grimaud R, El Hassouni M, et al. Methionine sulfoxide reductases protect Ffh from oxidative damages in *Escherichia coli*. *EMBO J* 2004 ; 23 : 1868-77.
5. Salmon AB, Pérez VI, Bokov A, et al. Lack of methionine sulfoxide reductase A in mice increases sensitivity to oxidative stress but does not diminish life span. *FASEB J* 2009 ; 23 : 3601-8.
6. Pal R, Oien DB, Ersen FY, et al. Elevated levels of brain-pathologies associated with neurodegenerative diseases in the methionine sulfoxide reductase A knockout mouse. *Exp Brain Res* 2007 ; 180 : 765-74.
7. Lai L, Sun J, Tarafdar S, et al. Loss of methionine sulfoxide reductases increases resistance to oxidative stress. *Free Radic Biol Med* 2019 ; 145 : 374-84.
8. Gennaris A, Ezraty B, Henry C, et al. Repairing oxidized proteins in the bacterial envelope using respiratory chain electrons. *Nature* 2015 ; 528 : 409-12.
9. Hitchcock A, Hall SJ, Myers JD, et al. Roles of the twin-arginine translocase and associated chaperones in the biogenesis of the electron transport chains of the human pathogen *Campylobacter jejuni*. *Microbiology* 2010 ; 156 : 2994-3010.
10. Ezraty B, Barras F. L'eau de javel et les bactéries. Identification d'une nouvelle cible thérapeutique potentielle. *Med Sci (Paris)* 2016 ; 32 : 542-4.



**Abonnez-vous
à médecine/sciences**

**Bulletin d'abonnement page 426
dans ce numéro de m/s**

Structure et assemblage d'un harpon moléculaire bactérien

Le système de sécrétion de type VI

Lucas Dupuis^{1*}, Ambre Moreau^{1*}, Donovan Robert^{1*}, Laurent Aussel²

¹Master 2 Microbiologie Intégrative et Fondamentale, Aix Marseille Université, Marseille, France.

²Aix Marseille Université, CNRS, LCB UMR, 7283, IMM, Marseille, France.

lucas.dupuis.1@etu.univ-amu.fr

ambre.moreau.1@etu.univ-amu.fr

donovan.robert@etu.univ-amu.fr

aussel@imm.cnrs.fr

> Les bactéries vivent dans des communautés constituées de différentes espèces au sein desquelles elles entretiennent des relations d'entraide ou de compétition [1]. Sauf dans le cas de changements environnementaux brusques, ces communautés sont stables. Par exemple, la composition du microbiote intestinal (les bactéries colonisant l'intestin) subit peu de changements au cours de la vie d'un individu [2]. Cependant, lors d'infections bactériennes ou de la prise d'antibiotiques, ce microbiote peut être déséquilibré, entraînant des dysfonctionnements : on parle alors de dysbiose [3].

Les relations d'échange ou de compétition entre microorganismes reposent en partie sur la production et la sécrétion de petites molécules ou de protéines effectrices dans le milieu ou dans des cellules cibles. Les bactéries ont en effet acquis au cours de l'évolution tout un arsenal de mécanismes permettant ces échanges parmi lesquels les systèmes de sécrétion. Ainsi, environ 25 % des bactéries à Gram négatif possèdent un système de sécrétion de type VI (SST6) [4]. Le système de sécrétion de type VI, utilisé pour la compétition bactérienne et pour l'infection de cellules eucaryotes, est une nanomachine contractile localisée à la membrane de la bactérie, pouvant être comparé à un harpon moléculaire. La flèche qui transporte des toxines, est assemblée à l'intérieur d'un ressort, le fourreau,

dont la contraction permet de propulser la flèche vers la cellule cible afin d'y injecter les toxines qu'elle contient. Ce harpon moléculaire est formé de plusieurs parties qui s'assemblent dans un ordre spécifique. On y retrouve ainsi le complexe membranaire, la plateforme d'assemblage, le tube et le fourreau contractile (Figure 1A) [5]. La complexité de ce système laisse supposer la nécessité d'une chronologie d'assemblage finement régulée et contrôlée. Cet article synthétise les connaissances sur la régulation et l'assemblage du SST6.

Initiation de l'assemblage

Le SST6 est ancré au niveau de la membrane bactérienne et sa biogénèse débute avec l'arrivée du complexe membranaire, premier élément de la structure (Figure 1B). Il est composé de trois protéines, TssJ, TssL et TssM. Initialement, seules TssJ et TssM s'insèrent dans la membrane. Cela marque le début de l'assemblage du SST6, qui se poursuit par l'insertion de la protéine cytoplasmique TssA (Figure 1B). Des études ont mis en évidence la symétrie d'ordre 6 de TssA, dont la structure ressemble à celle d'une étoile à six branches [6]. TssA s'associe au complexe membranaire TssJM avec lequel elle interagit. Cette interaction a été mise en évidence par des techniques de co-purification qui permettent de révéler les interactions protéine-protéine [7]. L'intérêt du recrutement de TssA dans les étapes précoces de la biogénèse est encore mal compris. Cependant, TssA pourrait jouer

un rôle d'adaptateur permettant de lier le complexe membranaire à symétrie d'ordre 5 au reste du SST6, de symétrie d'ordre 6. En parallèle, la protéine TssL, dernier composant du complexe, s'intègre à la membrane.

Une fois le complexe membranaire assemblé, TssA permet le recrutement de la plateforme d'assemblage et de la pointe perforatrice avant d'initier la polymérisation du tube et du fourreau contractile (Figure 1B) [6]. La question qui se pose est maintenant de comprendre comment le reste du système se met en place.

Élongation de la structure contractile

La formation et l'élongation du tube entouré de son fourreau contractile constituent la prochaine étape de l'assemblage du SST6. La protéine Hcp, sous forme d'hexamère, constitue le tube, tandis que le fourreau contractile est composé de blocs formés des protéines TssB et TssC (Figure 1B). Le recrutement des nouvelles sous-unités de la structure est assuré par TssA qui présente ainsi plusieurs propriétés : elle se lie au complexe membranaire ainsi qu'aux hexamères d'Hcp du tube et aux blocs de TssBC du fourreau [6]. Une fois les premières sous-unités recrutées, TssA coordonne l'assemblage de la structure tube/fourreau, comme cela a pu être observé par des expériences de microscopie à fluorescence (Figure 2) [6]. La protéine TssA et les protéines du fourreau contractile ont été étiquetées par des marqueurs fluorescents verts

*Ces trois auteurs ont de façon égale participé au travail

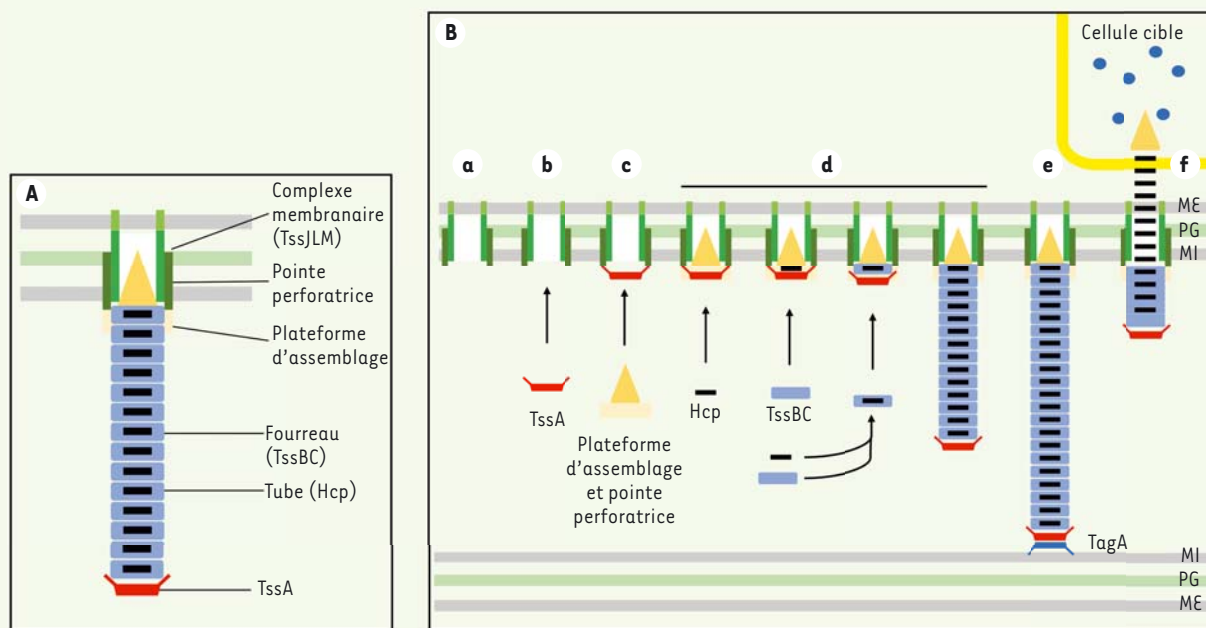


Figure 1. Structure, assemblage et contraction du système de sécrétion de Type VI (SST6). **A.** Représentation schématique du SST6 assemblé et de ses composants. **B.** Les différentes étapes de l'assemblage du SST6 : **(a)** recrutement du complexe membranaire TssLM ; **(b)** recrutement de TssA ; **(c)** recrutement de la plateforme d'assemblage et de la pointe perforatrice ; **(d)** élongation de la structure contractile par empilement de Hcp composant le tube et de TssBC composant le fourreau ; **(e)** arrêt de l'élongation lors de l'interaction entre TssA et TagA ; **(f)** contraction du fourreau pour injecter des effecteurs protéiques dans la cellule cible. ME : membrane externe ; PG : peptidoglycane ; MI : membrane interne.

(sfGFP) et rouges (mCherry), ce qui a permis de montrer que TssA se désolidarisait de la structure membranaire en restant positionnée à l'extrémité distale de la structure contractile en formation, s'éloignant ainsi de la membrane. Ce positionnement permet à TssA d'assurer le recrutement progressif des hexamères de Hcp et des blocs TssBC à l'extrémité distale (Figure 1B).

Cette élongation, qui mène à la formation complète d'une structure contractile et opérationnelle, s'effectue en quelques minutes (Figure 1B et Figure 2). À ce stade, il est légitime de se demander comment se passe l'arrêt de l'élongation et quels sont les mécanismes mis en place pour réguler la taille de la structure tubulaire.

Terminaison de l'assemblage

L'élongation du SST6 par empilement de Hcp et des blocs de TssBC se poursuit jusqu'à ce que celui-ci rencontre la

membrane située à l'opposé de la cellule bactérienne (Figure 1B et Figure 2) [8]. Pour arrêter l'élongation, le recrutement de TagA, protéine cytoplasmique liée à la membrane, est nécessaire [8,9]. Lorsque le SST6 arrive à la membrane opposée, il rencontre TagA qui s'associe à TssA et bloque sa capacité à recruter les hexamères de Hcp et les blocs de TssBC, ce qui mène à la terminaison de l'élongation du SST6 (Figure 1B et Figure 2). L'interaction entre TssA et TagA a été mise en évidence par la technique d'APEX2 (*engineered ascorbate peroxidase 2*) [9]. Cette technique repose sur un étiquetage de toutes les protéines situées à proximité de celle que l'on veut étudier, suivi d'une identification des protéines étiquetées (dans ce cas, TssA). Cela permet de révéler ce que l'on appelle le proxisome, c'est-à-dire l'ensemble des protéines à proximité de la protéine d'intérêt. La technique d'APEX2 a été nommée ainsi car elle utilise un variant synthétique de l'ascor-

bate peroxydase qui permet d'oxyder les dérivés du phénol en radicaux phénoxy en présence de peroxyde d'hydrogène (H_2O_2). Plus précisément, le phénol-biotine est oxydé en phénoxy-biotine qui marque les partenaires proches. Ces partenaires ainsi marqués peuvent être identifiés par spectrométrie de masse : c'est ainsi que la protéine TagA a été révélée comme partenaire de TssA.

Selon ce modèle, en l'absence de TagA, le SST6 continuerait de s'allonger malgré sa rencontre avec la membrane opposée. C'est un phénomène que l'on observe chez les bactéries dépourvues de TagA dans lesquelles le SST6 se courbe pour continuer à s'allonger. La localisation membranaire de TagA implique que la terminaison de l'élongation du SST6 ne peut avoir lieu qu'une fois que ce dernier a atteint la membrane opposée. La longueur du tube et du fourreau est ainsi limitée par la distance entre les membranes de la bactérie, donc par la

Entretien avec **Éric Cascales** mené par les auteurs de la Nouvelle

Éric Cascales est directeur de recherche au CNRS et travaille sur les systèmes de sécrétion bactériens au Laboratoire d'Ingénierie des Systèmes Macromoléculaires (LISM) à Marseille. Son équipe est à l'origine de nombreuses avancées sur la structure et l'assemblage du système de sécrétion de type VI, découvert en 2006. Éric Cascales est également éditeur pour différents journaux scientifiques. Il a reçu plusieurs distinctions dont la médaille de bronze du CNRS en 2011 et le prix Bettencourt « Coups d'élan pour la recherche française » en 2018.



Pourriez-vous vous présenter en quelques mots ?

Éric Cascales

Je suis directeur de recherche au CNRS et je dirige une équipe qui est actuellement composée d'une quinzaine de membres. Dans cette équipe, il y a des chercheurs statutaires, des ingénieurs, des techniciens, des post-doctorants français et étrangers et des doctorants.

Est-ce que vous pouvez présenter les différentes thématiques sur lesquelles travaille votre équipe ?

EC : Nous travaillons sur les mécanismes qui permettent de contrôler et réguler les communautés bactériennes. Ce qui nous intéresse, c'est de comprendre comment les bactéries vont interagir les unes avec les autres. Actuellement, deux projets principaux sont développés. Le premier projet porte sur le système de sécrétion de type VI qui est l'une des armes utilisées par les bactéries pour en tuer d'autres. Bien entendu, la compétition bactérienne fait partie du contrôle des communautés microbiennes. Plus récemment, nous avons débuté un nouveau projet sur un autre système de sécrétion : le système de sécrétion de type IX dont le rôle est la sécrétion de toxines, mais également la propulsion des bactéries.

Le SST6, c'est un sujet où il y a beaucoup de compétition. Comment vous situez-vous par rapport à cela ? Est-ce plutôt motivant ou, à l'inverse, une source de stress ?

EC : C'est une source de motivation bien évidemment car on sait qu'il y a des équipes dans le monde qui travaillent sur des choses très similaires aux nôtres. Ça veut dire qu'on ne peut pas se permettre d'attendre, il faut être pro-actif et c'est une source de motivation. C'est aussi une source de stress puisque quand on a bien avancé une étude, on se dit qu'on peut se faire « *scooper* » à n'importe quel moment. Parfois on passe devant un concurrent, parfois ce sont eux qui nous passent devant, c'est ainsi... Mais le plus souvent, on discute avec ces équipes pour se tenir au courant de ce qu'elles font, parfois même on collabore. Actuellement, il y a une grosse quinzaine d'équipes dans le monde qui travaillent sur le SST6. Nous savons qu'il y a des risques que nos projets se chevauchent. On va donc essayer d'engager la conversation et de voir comment on peut le faire de manière « intelligente » pour tout le monde. *Est-ce que vulgariser est un exercice que vous avez souvent l'occasion de faire et qui vous plaît ?*

EC : On n'a pas eu souvent l'occasion de le faire mais chaque fois que nous l'avons fait, cela a été avec grand plaisir. Nous sommes souvent invités à faire des conférences ou des séminaires dans des instituts scientifiques ou dans des congrès. On s'adresse alors à un public de spécialistes. Dans un article scientifique, on décrit des faits et on ne vulgarise pas tellement. Quelquefois, il arrive qu'une télé passe au laboratoire pour faire un reportage. On a eu aussi *Sciences & Vie Junior* qui voulait faire un article et on a dû faire de la vulgarisation. Le SST6 s'y prête plutôt bien car même pour des enfants, on peut comparer le tube interne et la pointe avec les toxines à une flèche, comme une sarbacane. Pour le fourreau contractile, on peut parler d'un ressort. Le com-

plexe membranaire serait une meurtrière par laquelle la flèche va être éjectée. Donc oui, c'est plutôt simple de vulgariser nos projets actuels.

À un niveau un peu plus personnel, est-ce que vous pourriez nous parler de votre parcours ?

EC : Je ne me destinais pas du tout à faire de la science. Je suis violoniste ; j'ai commencé le violon quand j'avais 4 ans. Pour faire court, après des études poussées en violon, j'avais l'appréhension de faire de la musique toute ma vie ou de me retrouver professeur de musique. Et en cherchant ce qui pourrait m'intéresser, j'ai trouvé la biochimie et du coup, j'ai fait un bac technique en biochimie (STL). Après, je suis allé à la fac et j'ai continué là-dedans. Chaque année, je me disais que l'année d'après, j'allais arrêter. Finalement, le parcours a été extrêmement linéaire à partir du moment où je suis rentré à la fac, même s'il n'était pas du tout prévu dans ma tête. C'est comme ça que je me suis retrouvé en post-doctorat aux États-Unis. À mon retour, j'ai obtenu un poste au CNRS où j'ai pu monter mon équipe.

C'est comme ça qu'est venu le système de sécrétion de type 6 ?

EC : C'est comme ça qu'est venu le système de sécrétion de type 4 ! À l'époque, le type 6 n'était pas encore identifié. Mais, à vrai dire, ce n'était même pas le système de type 4 qui m'intéressait, j'étais amoureux de la bactérie *Agrobacterium tumefaciens*, et je me demandais « *Comment une bactérie peut-elle avoir des gènes avec des signaux d'expression eucaryotes ?* ». J'avais trouvé ça absolument fascinant, en termes d'évolution et je voulais vraiment travailler là-dessus.

Le système de sécrétion de type 6 est venu plus tard. À mon retour au CNRS, j'ai commencé à travailler sur le système de sécrétion de type 4. Mais quand le système de sécrétion de type 6 a été identifié par une équipe américaine, je me suis dit « *Allons-y !* ». En réalité, je désirais repartir avec la thématique sur laquelle je travaillais durant mon post-doctorat et continuer des choses qui ont été développées, mais cela a été compliqué. Du coup, quand l'opportunité du système de sécrétion de type 6 s'est présentée, je suis parti directement dessus en me disant que ça me faisait commencer quelque chose de nouveau et à un endroit où je pouvais faire ma niche.

Après ce parcours, de quelle réussite êtes-vous particulièrement fier ?

EC : Il n'y a pas un résultat particulier qui va me faire dire « *Je suis fier de ça* », parce qu'en fait c'est une succession de petits plaisirs. Je dirais qu'il y a deux choses qui m'importent et que je regarde avec fierté.

La première, c'est la continuité. Quand on regarde et on se dit qu'on a réalisé un joli travail pour essayer de bien décortiquer toute cette machine, son assemblage et son mode de fonctionnement. C'est plutôt la globalité que je trouve intéressante, c'est de se dire « *Ça fait douze ans qu'on travaille sur ça et, petit à petit, par petites briques, on a construit quelque chose.* », que ce soit nous ou des contributions d'autres équipes, on peut être fier de ce qu'on a construit, de ce qu'on a apporté à la connaissance scientifique dans ce domaine.

La seconde, c'est la fierté quand on voit les doctorants qui partent après avoir fait un beau travail. On peut être fier de la thèse, mais c'est encore plus de fierté quand ils réussissent en post-doctorat. Je suis fier d'eux quand ils publient un article dans leur nouveau laboratoire, et encore plus quand ils reviennent et qu'ils ont obtenu un poste. Par exemple, la première étudiante que j'ai eue en thèse sur le système de sécrétion de type 6 au laboratoire est partie faire un post-doctorat aux États-Unis, puis elle a eu un poste dans un institut prestigieux en Suède. Quand elle est arrivée au laboratoire, en master 2, elle a appris à pipeter ; et maintenant, elle va diriger une équipe au Karolinska Institutet à Stockholm. S'il y a une véritable source de fierté, c'est plutôt cela.

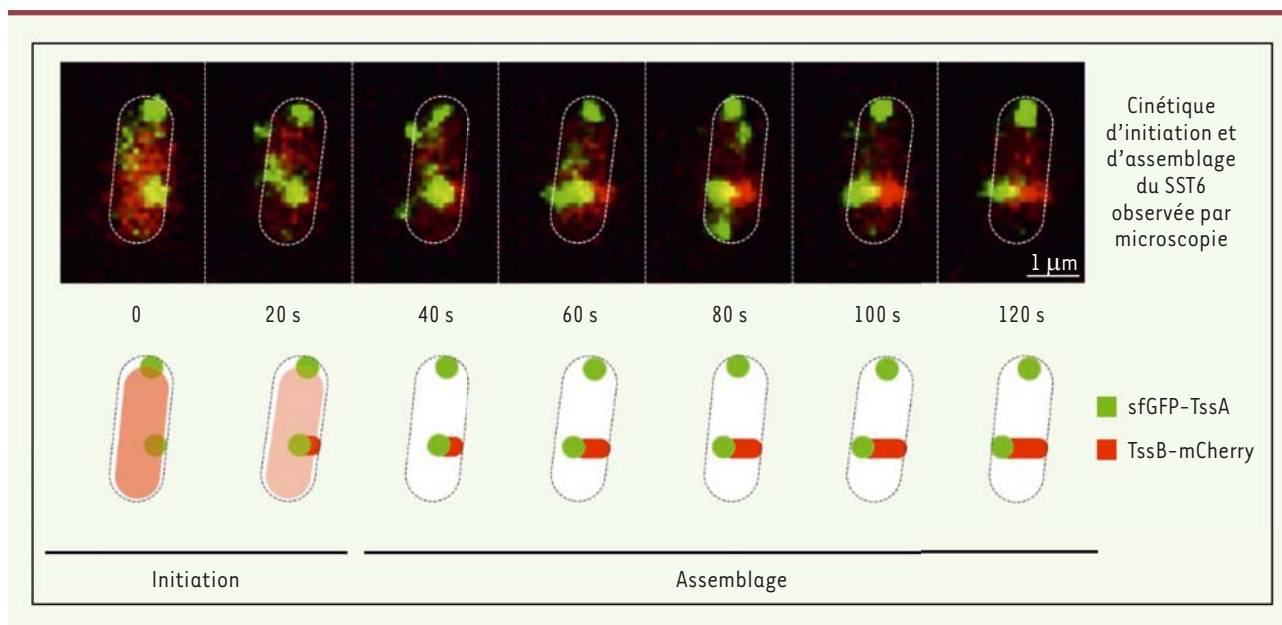


Figure 2. Formation d'un système de sécrétion de type VI in vivo. Les images ont été prises toutes les vingt secondes dans des cellules d'*Escherichia coli* entéroagréгатives produisant les protéines sfGFP-TssA et TssB-mCherry. sfGFP (vert) et mCherry (rouge) sont des marqueurs fluorescents qui permettent de suivre la localisation cellulaire de TssA et TssB au cours du temps. TssA se localise à l'extrémité distale du fourreau de TssBC durant l'élongation. Barre d'échelle, 1 μm (images de l'équipe d'Éric Cascales, non publiées).

largeur de la cellule. L'intervention de TagA marque la fin de l'assemblage du SST6 et permet de maintenir le fourreau contractile sous sa forme étendue, énergétiquement défavorable, jusqu'à sa contraction (Figure 1B).

Rôle du SST6 in vivo

De la mise en place du complexe membranaire, formé de TssJLM, à la polymérisation d'un long tube de Hcp entouré de son fourreau contractile de TssBC, le SST6 est une nanomachine complexe qui requiert l'intervention de protéines coordinatrices pour sa formation. Ainsi, deux protéines TssA et TagA, jouent des rôles particulièrement importants pour la formation d'un SST6 opérationnel. TssA intervient dès le début de l'assemblage et permet ensuite le recrutement progressif des sous-unités de la structure contractile. Pour remplir cette fonction, TssA se positionne à l'extrémité distale du tube et du fourreau en formation. Cette élongation se poursuit jusqu'à la rencontre de TssA avec TagA, positionnée sur la membrane opposée. La longueur du SST6 est donc régulée par la largeur

de la bactérie. Cette longue structure peut ensuite se contracter pour injecter des toxines dans les cellules cibles. Une des finesses de ce système est qu'il permet aux bactéries de la même espèce de ne pas se nuire entre elles. En effet, toutes les bactéries possédant le SST6 produisent également une protéine d'immunité spécifique de la toxine qui agit comme un antidote. Par conséquent, cette espèce bactérienne n'est pas impactée, ce qui permet une multiplication de ces bactéries en parallèle d'une mortalité accrue des espèces ne produisant pas la protéine d'immunité. Le SST6, grâce à ce système ingénieux, permet *in fine* aux bactéries qui le possèdent de prendre l'avantage sur de possibles compétitrices au sein d'une niche écologique [1]. Par ailleurs, d'autres questions restent en suspens comme une meilleure compréhension du mécanisme d'élongation s'effectuant par l'intermédiaire de TssA, notamment son mécanisme d'ouverture permettant l'intégration des Hcp et des blocs TssB et TssC ; ou encore le fonctionnement de la protéine TagA dans l'arrêt de l'élongation et dans quelle mesure son

interaction avec TssA empêcherait cette dernière de continuer à recruter Hcp et les blocs de TssBC. Une meilleure connaissance de ces mécanismes pourrait ainsi aider à la compréhension de la dynamique de communautés microbiennes comme le microbiote intestinal. En outre, une compréhension plus fine des mécanismes d'infection mis en place par les bactéries pourrait permettre de proposer de nouvelles solutions thérapeutiques pour lutter plus efficacement contre les microorganismes pathogènes. \diamond

Structure and assembly of a bacterial nano-speargun: The type VI secretion system

LIENS D'INTÉRÊT

Les auteurs déclarent n'avoir aucun lien d'intérêt concernant les données publiées dans cet article.

RÉFÉRENCES

1. Sana TG, Lugo KA, Monack DM. T6SS: the bacterial fight club in the host gut. *PLoS Pathogens* 2018 ; 13 : e1006325.
2. Faith JJ, Guruge JL, Charbonneau M, et al. The long-term stability of the human gut microbiota. *Science* 2013 ; 341 : 1237439.
3. Tamboli CP, Neut C, Desreumaux P, et al. Dysbiosis in inflammatory bowel disease. *Gut* 2004 ; 53 : 1-4.

RÉFÉRENCES

- Chen C, Yang X, Shen X. Confirmed and potential roles of bacterial T6SSs in the intestinal ecosystem. *Front Microbiol* 2019 ; 10 : 1484.
- Cherrak Y, Flaugnatti N, Durand E, et al. Structure and activity of the type VI secretion system. *Microbiol Spectrum* 2019 ; 7 : 0031.
- Zoued A, Durand E, Brunet YR, et al. Priming and polymerization of a bacterial contractile tail structure. *Nature* 2016 ; 531 : 59-63.
- Phizicky EM, Fields S. Protein-protein interactions: methods for detection and analysis. *Microbiol Rev* 1995 ; 50 : 94-123.
- Santin YG, Doan T, Journet L, et al. Cell width dictates type VI secretion tail length. *Curr Biol* 2019 ; 29 : 3707-13.
- Santin YG, Doan T, Lebrun R, et al. In vivo TssA proximity labelling during type VI secretion biogenesis reveals TagA as a protein that stops and holds the sheath. *Nat Microbiol* 2018 ; 3 : 1304-13.

NOUVELLE

Diversité des mécanismes de transcription des virus géants

Manon Dassa-Valzer^{1*}, Romain Debiton^{1*}, Margaux Gibert^{1*}, Alexandre Lutz^{1*}, Amel Latifi²

¹Master 2 Microbiologie Intégrative et Fondamentale, Aix Marseille Université, Marseille, France.

²Aix Marseille Université, CNRS, LCB UMR, 7283, IMM, Marseille, France.

manon.dassa-valzer@etu.univ-amu.fr

romain.debiton@etu.univ-amu.fr

margaux.gibert@etu.univ-amu.fr

alexandre.lutz@etu.univ-amu.fr

latifi@imm.cnrs.fr

➤ Avec son génome de 1,2 Mb et sa capside de 450 nm, Mimivirus, le premier virus géant identifié en 2003 [1], a marqué une rupture dans le monde microbien. Les techniques de filtration utilisées pour l'isolement des virus avaient en effet occulté l'existence des virus géants dont la taille des capsides entraînait leur rétention par les filtres. Depuis la découverte de Mimivirus, de nombreux autres virus géants ont été identifiés. Ils possèdent des capsides allant de 300 nm à 2 µm et des génomes à ADN double brin variant entre 288 kb et 2,5 Mb. Bien qu'ils possèdent parfois un génome plus grand que certaines bactéries, ce sont des parasites obligatoires d'organismes eucaryotes unicellulaires [2]. Leurs hôtes sont retrouvés dans tous les écosystèmes, y compris certains environnements extrêmes comme les cheminées hydrothermales, ou des environnements plus communs comme les sols, le pergélisol, les eaux ou encore le microbiote intestinal. Bien que des virus géants puissent être véhiculés chez l'homme, leur présence ne s'accompagne pas d'une pathogénicité. Étant donné leur grande diversité, notamment au niveau de leurs génomes et de leurs cycles infectieux,

il est difficile d'avoir une classification universelle. La diversité génomique est illustrée par une forte représentation de gènes ne possédant aucune homologie ni avec les gènes d'autres familles de virus ni avec le monde cellulaire, mais souvent conservés au sein d'une même famille de virus. Ces gènes sont connus sous le terme de gènes orphelins. Il existe différents mécanismes d'entrée et de sortie des virions, qui aboutissent tous au transfert du contenu de la particule virale dans le cytoplasme de l'hôte et à la libération de particules virales dans le milieu. Les différences inter-virus au niveau des cycles infectieux sont liées à la dépendance au noyau cellulaire pour les mécanismes de réplication de l'ADN et de transcription des gènes. Cet article résume les différents mécanismes de transcription connus à ce jour à travers trois exemples majeurs.

Mimivirus, le géant de l'autonomie

La famille des *Mimiviridae* est la première famille de virus géants identifiée [11,12] (→).

Ils sont capables de réaliser leurs cycles infectieux de façon quasi-autonome, pour

les fonctions nucléaires, dans leur hôte cellulaire. En effet, immédiatement après l'infection, les *Mimiviridae* initient la transcription de leur génome. Ceci est possible car ils possèdent tous les gènes permettant la synthèse d'une machinerie de transcription autonome (ARN polymérase virale). Ils utiliseront ensuite la machinerie de traduction de l'hôte pour traduire leurs ARN messagers. Ils sont de plus capables d'embarquer cette machinerie dans leurs capsides. Ceci va permettre la transcription des gènes précoces immédiatement après l'infection (Figure 1). Ces derniers gènes présentent un promoteur unique, conservé, différent des promoteurs cellulaires et de ceux utilisés par les gènes tardifs [3]. En plus d'être autonomes pour la transcription, ces virus le sont également pour la maturation de leurs ARNm (voir Encadré « maturation des ARN messagers ») grâce à leur capacité d'intégrer les facteurs de maturation dans leur capside. En 2009, l'analyse des génomes de ces virus a permis de proposer un mécanisme selon lequel un ARN palindromique gouverne l'arrêt de la transcription et la maturation des transcrits (règle de l'épingle à cheveux) [4]. Ce mécanisme, caractérisé en 2015, est assuré par la polyA polymérase virale

(→) Voir la Nouvelle de M. Bekliz et al., *m/s* n° 10, octobre 2016, page 818, et la Synthèse de J.M. Claverie et C. Abergel, *m/s* n° 12, décembre 2016, page 1087

*Ces quatre auteurs ont de façon égale participé à la rédaction de cet article.

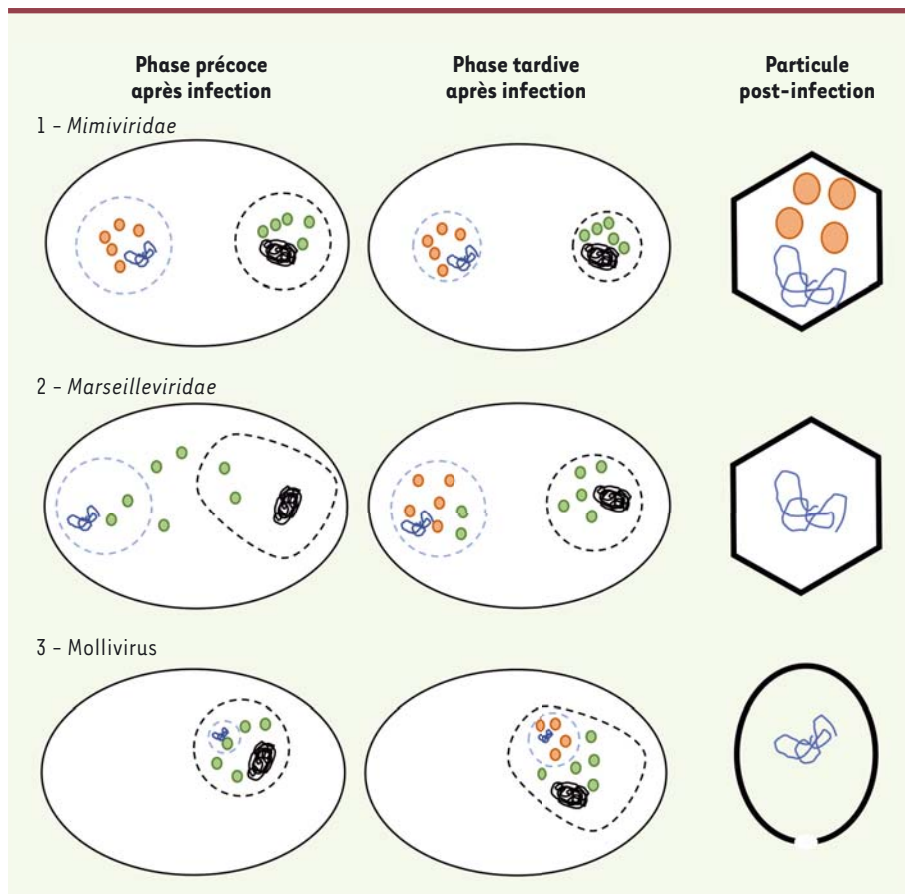


Figure 1. Représentation schématique de différents mécanismes de transcription chez les virus géants. 1. Le virus commence la transcription de ses gènes précoces dans l'usine virale en utilisant sa propre machinerie. Dans la phase tardive, le virus va continuer son cycle infectieux de façon autonome, pour finalement libérer des particules virales contenant son génome ainsi que sa propre machinerie de transcription. 2. Le virus va recruter la machinerie de transcription de l'hôte, en la faisant migrer du noyau vers l'usine virale. Ceci a pour effet de déstructurer le noyau de l'hôte. Par la suite, le virus utilise sa propre machinerie de transcription néosynthétisée pour la transcription des gènes tardifs. Finalement, il libèrera des particules virales contenant son génome, mais sera incapable d'encapsider sa propre machinerie. 3. L'usine virale va se former dans le noyau de l'hôte et détournera la machinerie de transcription de ce dernier. En phase tardive, le virus continue son cycle infectieux dans le noyau mais

en utilisant sa propre machinerie néosynthétisée, conduisant à la déstructuration du noyau. La capside virale libérée contient le génome viral. Traits pleins noirs : ADN de l'hôte. Traits pointillés noirs : noyau de l'hôte. Traits pleins bleus : ADN viral. Traits pointillés bleus : usine virale. Ronds verts : machinerie de transcription de l'hôte. Ronds orange : machinerie de transcription virale.

qui présente une structure originale et la capacité unique d'ajouter de longues queues polyA au niveau des structures en épingle à cheveux [5]. Ceci augmente la stabilité des ARNm viraux, retardant leur dégradation, favorisant ainsi la traduction virale par rapport à la traduction cellulaire. Ce sont ces spécificités qui vont différencier les *Mimiviridae* des autres virus présentés dans cet article.

Mollivirus sibericum, le géant casanier

Mollivirus sibericum, virus géant isolé dans le pergélisol sibérien, est un exemple intéressant de virus détournant la transcription de son hôte en installant son usine virale au sein du noyau cellulaire. Une approche de protéomique a permis de décrypter toutes les étapes du

cycle de ce virus, ce qui a permis d'avoir une vision globale de cette infection [6]. Cette étude a montré que, bien que codant pour une ARN polymérase, celle-ci ne se retrouve pas dans la capside. Lors de la phase précoce, la machinerie cellulaire permet la production de l'ARN polymérase virale, qui prend le relais pour le reste du cycle infectieux. La microscopie à fluorescence a également montré le transport de l'ADN viral vers le noyau cellulaire dès le début de l'infection. Toutefois le mécanisme précis du transfert de celui-ci à travers le cytoplasme vers le noyau cellulaire reste encore à élucider. Une fois le matériel viral introduit dans le noyau, ce dernier se déstructure partiellement, permettant ainsi l'accès de l'ADN viral à la polymérase cellulaire (Figure 1). Ce

mécanisme est également partagé avec les virus de la famille des *Pandoraviridae* [7,8], pourtant très éloignés de *Molliviridae*. Ces virus s'appuient ainsi sur la machinerie de transcription cellulaire en la détournant à leur profit.

Les cycles infectieux des deux familles virales présentés ci-dessus possèdent ainsi des niveaux de dépendance nucléaire opposés, mais il existe d'autres virus ayant un niveau de dépendance intermédiaire.

Marseilleviridae, le géant indécis

Les *Marseilleviridae* ont été considérés pendant longtemps comme des virus exclusivement cytoplasmiques parce qu'ils codent une machinerie de transcription complète. Or l'analyse du protéome des virions a révélé l'absence

Entretien avec Chantal Abergel mené par les auteurs de la Nouvelle

Chantal Abergel est chercheuse en microbiologie avec un tropisme particulier pour la virologie. Suite à son implication dans la découverte et la caractérisation d'un nouveau groupe de virus, les « virus géants » en 2003, elle consacra le reste de sa carrière à l'étude de cette nouvelle famille émergente. Elle est la co-fondatrice du laboratoire « Information Génomique et Structurale » (IGS-Marseille Luminy) au sein duquel elle exerce en tant que directrice de recherche. Elle a reçu la médaille d'argent du CNRS en 2014 et le prix « La Recherche » en 2015, ainsi que la distinction d'Officier de l'Ordre National du Mérite en 2019.



Quel est votre parcours académique ?

Chantal Abergel

Parcours universitaire à l'université de Marseille-Luminy jusqu'en Master 1. Après, j'ai quitté pour un moment le cursus car je voulais partir en Amérique du Sud pour faire mon Master 2, mais la personne que je devais rencontrer à Genève pour démarrer ce Master 2 n'est jamais venue... J'ai donc interrompu mon cursus à ce moment. J'ai travaillé au Service de santé des armées en parasitologie en cherchant à acquérir des connaissances dans ce domaine. Cela m'a permis d'intégrer un Master l'année d'après dans un laboratoire qui travaillait sur les calculs pancréatiques. Malheureusement, c'était la première année de cette formation et le responsable avait oublié de demander les bourses de thèses... Il a donc fallu que je recherche une thèse. Par chance, une bourse CIFRE co-financée par *Matra espace* était proposée par un laboratoire qui travaillait sur la cristallisation des protéines. Ayant des connaissances dans ce domaine, j'ai obtenu cette bourse. Le projet de thèse portait sur l'étude des paramètres critiques à la cristallisation des protéines, dont la microgravité. J'ai donc fait une thèse en science des matériaux et j'ai pu faire voler des cristaux dans l'espace ! Après ma thèse, je suis partie cinq ans en post-doctorat aux NIH (*National Institutes of Health*) à Bethesda, aux États-Unis.

Comment a été créé le laboratoire Information Génomique et Structurale ?

CA : De retour en France, avec Jean-Michel Claverie, nous avons eu l'opportunité en 1995 de créer un laboratoire de bio-informatique et de biologie structurale : l'IGS. Nous nous sommes alors intéressés à des projets qui étaient centrés sur l'analyse et la comparaison des génomes. On a donc démarré un petit programme de génomique structurale qui portait sur la production des protéines et leur caractérisation structurale. Nous avons également eu un financement important en proposant un projet pour rechercher de nouvelles cibles à de nouveaux antibiotiques en comparant les génomes de bactéries pathogènes à ceux des bactéries non pathogènes.

Comment l'IGS s'est-il orienté vers les virus géants ?

CA : L'expertise du laboratoire en génomique a fait que de nombreuses personnes nous ont contactés pour faire du séquençage et de l'annotation de génomes, notamment des génomes bactériens. Parmi eux, Didier Raoult, qui était un spécialiste des bactéries parasites, a demandé à collaborer avec le laboratoire sur cette thématique. Il s'avère qu'aux alentours des années 2000, un échantillon est arrivé d'Angleterre dans le laboratoire de Didier Raoult dans le but de caractériser l'organisme pathogène infectant les amibes. Notre laboratoire a été impliqué sur l'aspect génomique de ce travail et c'est nous qui avons procédé à l'annotation du génome. Et c'est là que nous avons découvert *Mimivirus*. Cela a été une fascination immédiate à cause de toutes les surprises que présentaient *Mimivirus*. On a décidé de ne pas lâcher les virus géants et on a basculé vers un dévelop-

pement de nouvelles méthodes qui nous permettaient de les étudier. Et à partir de là, nous avons non seulement continué à travailler sur *Mimivirus* mais nous avons également cherché à isoler d'autres virus géants pour démontrer qu'ils étaient ubiquitaires, qu'on les avait juste occultés à cause d'un processus de filtration utilisé depuis longtemps et imposé par des traditions historiques

Actuellement, qu'est-ce qui est fait dans votre laboratoire ?

CA : Nous essayons de faire le plus de choses possibles. C'est-à-dire qu'on utilise les techniques et les méthodologies qui existent à l'heure actuelle pour essayer d'avoir le plus de réponses sur les cycles infectieux de ces virus, sur leur mode de fonctionnement, le rôle des protéines de ces virus et l'interaction qui existe entre ces virus et la cellule, voire même dans des systèmes plus complexes (virus géant, virophage, transpoviron). On utilise toutes les techniques d'imagerie possibles. On essaye également d'implémenter les mutations dans la cellule pour pouvoir réaliser des études fonctionnelles sur les gènes essentiels pour ces virus. Nous faisons de la résolution de structure, en tentant de comprendre la fonction de chacune de ces protéines avec des questions plus vastes qui sont de rétablir les voies métaboliques. Enfin, nous essayons d'établir des liens entre les protéines qui sont codées dans le génome de ces virus. Globalement, nous essayons de répondre, par toutes les techniques possibles et imaginables, à tout un panel de questions biologiques.

Qu'est-ce qui vous intéresse le plus dans l'étude des virus géants ? Est-ce que c'est d'établir toute la mécanistique que va avoir un virus pour son cycle infectieux ou est-ce la découverte d'un nouveau virus ?

CA : Les deux. Mais plus que ça, il y a une question de fond qui est « *Quelle est la place des virus dans l'évolution ? Quelle est la place des virus par rapport au monde cellulaire ?* ». Et ces virus géants nous ont permis de nous introduire et de nous positionner avec ce genre de questions dans le domaine de la virologie. Redéfinir la notion de virus, les replacer dans un contexte évolutif par rapport au monde cellulaire.

Est-ce vous qui avez eu l'idée d'aller chercher les virus géants à tel ou tel endroit, ou ce sont les recherches qui vous orientent sur le prochain site ?

CA : L'idée du pergélisol, c'est Jean-Michel Claverie qui l'a eue. Un article publié dans PNAS montrait qu'il était possible de réactiver une plante à partir d'un fragment de fruit congelé dans le pergélisol. S'il était possible de réactiver un organisme aussi complexe qu'une plante à fleurs, réactiver un virus devait être également possible. Donc il a pris contact avec les gens qui travaillent là-dessus. Mais avant ça, on avait une logique. Nous avons organisé notre première mission au Chili, dans le Pacifique, car c'est un lieu où il y a beaucoup de nutriments, beaucoup de brassages qui permettent d'avoir un biotope hyper-varié et très riche. Progressivement, on s'est rendu compte qu'en ramassant un peu de terre sous l'arbre situé à l'entrée du laboratoire, il était possible de réactiver des Pandoravirus. Au début, on ne pensait pas qu'ils étaient aussi abondants dans l'environnement. Maintenant, on le sait, ils sont partout et on veut tous les attraper, comme les Pokémon !

Quel est votre virus géant préféré, est-ce qu'il y en a un qui sort un peu du lot ?

CA : Chacun sort du lot à sa manière, mais mes préférés sont les Pandoravirus car ils sont tellement différents de tous les virus à ADN ! Il y a 90 % du génome dont on n'a pas la moindre idée de la fonction. Donc je pense que ce sont ceux-là qui peuvent avoir des voies métaboliques originales. On a découvert récemment qu'ils étaient capables de créer leurs propres gènes *ab initio*. Au niveau évolutif, c'est magistral car cela veut dire que ces gènes n'ont pas d'histoire. Il y a encore de la « créativité » qui peut apparaître.



Maturation des ARN messagers

Chez les eucaryotes, l'ADN est transcrit en ARN-pré messager qui sera ensuite transformé en ARNm. Il existe trois grandes modifications : l'addition de la coiffe à l'extrémité 5', permettant la protection du transcrite contre la dégradation, son exportation vers le cytoplasme, et sa traduction. Elle consiste en la modification du premier nucléotide transcrit, catalysée par la guanylyl transférase et la guanine-7-méthyltransférase. Suite à cela, l'étape d'épissage consiste en l'excision des introns (séquences non codantes de l'ARN primaire) et en l'assemblage bout à bout des exons (séquences codantes). Ces deux étapes se font de manière co-transcriptionnelle. Pour finir, l'addition d'une queue polyadénylée (200 nucléotides environ) à l'extrémité 3', est une étape post-transcriptionnelle réalisée par la polyA polymérase, permettant la stabilité de l'ARNm et sa traduction. La maturation de l'ARNm est un processus indispensable à sa traduction [10]. Les virus vont donc aussi devoir effectuer ces modifications afin de pouvoir réaliser la traduction de leurs ARN et donc effectuer leur cycle infectieux.

d'ARN polymérase, ce qui impose l'utilisation de la machinerie cellulaire, au moins pour les gènes précoces [9]. En effet, une étude par microscopie électronique et microscopie à fluorescence a montré, en 2017, que, lors de la phase précoce, le noyau de la cellule hôte se déforme pour permettre la migration de protéines du noyau de la cellule hôte vers l'usine virale. Ce processus se fait sans la libération de l'ADN de l'hôte, éliminant l'hypothèse d'une dégradation totale du noyau. Le modèle proposé pour ces virus est qu'ils seraient capables de recruter la machinerie de transcription de leur hôte, en l'extrayant du noyau et en la faisant migrer vers l'usine virale formée dans le cytoplasme (Figure 1). Ce phénomène leur permettrait d'assurer la transcription des gènes précoces, notamment les gènes codant pour la machinerie de transcription et de maturation des ARNm viraux. La migration des protéines nucléaires et la localisation cytoplasmique de l'usine virale reflètent un mécanisme de dépendance au noyau intermédiaire à ceux vus précédemment.

Synthèse et ouverture sur les mécanismes de transcription chez les virus géants

Depuis leur découverte, les virus géants n'ont cessé de susciter l'intérêt, notamment à cause de la diversité des environnements où ils sont retrouvés, de leurs tailles, formes, cycles infectieux,

etc. Dans cet article, nous avons synthétisé les études récentes réalisées sur les mécanismes de transcription virale et catégorisé au moins trois grands procédés. Les virus les plus autonomes, qui possèdent l'intégralité des protéines nécessaires à la transcription et à la maturation de leur ARNm, illustrés ici par les *Mimiviridae* dont la transcription est cytoplasmique. Un second système à l'opposé de ce dernier, est utilisé par *Mollivirus sibericum* et les *Pandoraviridae* qui, eux, sont nucléaires et détournent la machinerie de transcription de l'hôte en phase précoce. Enfin, les *Marseilleviridae* utilisent un système intermédiaire, qui requiert la migration de la machinerie de l'hôte du noyau vers l'usine virale. Les données rassemblées jusqu'à ce jour ne permettent pas d'avancer un réel lien évolutif entre tous ces mécanismes, ni d'éliminer l'hypothèse que l'un d'entre eux puisse être la version la plus aboutie. Toutefois, si un parallèle est réalisé avec le schéma évolutif le plus fréquent chez les pathogènes intracellulaires, qui consiste en une réduction génomique, favorisant le détournement des machineries de leur hôte, il serait possible d'imaginer une évolution d'un système de cycle viral cytoplasmique et autonome vers un système nucléaire et dépendant de l'hôte. L'évolution des virus géants est une des questions ouvertes et des plus intéressantes qui restent à élucider en

virologie. Ainsi, il se peut que des études plus approfondies des cycles infectieux et des nombreux gènes viraux orphelins permettent de trouver un début de réponse à cette question. ♦

Diversity of transcriptional mechanisms in giant viruses

LIENS D'INTÉRÊT

Les auteurs déclarent n'avoir aucun lien d'intérêt concernant les données publiées dans cet article.

RÉFÉRENCES

1. Scola BL. A giant virus in Amoebae. *Science* 2003 ; 299 : 2033.
2. Brandes N, Linal M. Giant viruses. Big surprises. *Viruses* 2019 ; 11 : 404.
3. Raoult D. The 1.2-megabase genome sequence of mimivirus. *Science* 2004 ; 306 : 1344-50.
4. Byrne D, Grzela R, Lartigue A, et al. The polyadenylation site of mimivirus transcripts obeys a stringent hairpin rule. *Genome Res* 2009 ; 19 : 1233-42.
5. Priet S, Lartigue A, Debart F, et al. mRNA maturation in giant viruses: variation on a theme. *Nucleic Acids Res* 2015 ; 43 : 3776-88.
6. Legendre M, Lartigue A, Bertaux L, et al. In-depth study of *Mollivirus sibericum*, a new 30,000-y-old giant virus infecting *Acanthamoeba*. *Proc Natl Acad Sci USA* 2015 ; 112 : E5327-35.
7. Philippe N, Legendre M, Doutré G, et al. Pandoraviruses: Amoeba viruses with genomes up to 2.5 Mb reaching that of parasitic eukaryotes. *Science* 2013 ; 341 : 281-6.
8. Pereira Andrade AC dos S, Victor de Miranda Boratto P, Rodrigues RAL, et al. New isolates of pandoraviruses: contribution to the study of replication cycle steps. *J Virol* 2018 ; 93 : e01942-18/jvi/93/5/JVI.01942-18.atom.
9. Fabre E, Jeudy S, Santini S, et al. Noumeavirus replication relies on a transient remote control of the host nucleus. *Nat Commun* 2017 ; 8 : 15087.
10. Bentley DL. Coupling mRNA processing with transcription in time and space. *Nat Rev Genet* 2014 ; 15 : 163-175.
11. Bekliz M, Levasseur A, La Scola B, Raoult D. MIMIVIRE, un système de défense chez mimivirus qui illustre l'hypothèse de la Reine Rouge. *Med Sci (Paris)* 2016 ; 32 : 818-9.
12. Claverie JM, Abergel C. Les virus géants. État des connaissances, énigmes, controverses et perspectives. *Med Sci (Paris)* 2016 ; 32 : 1087-96.



**Abonnez-vous
à médecine/sciences**

**Bulletin d'abonnement page 426
dans ce numéro de m/s**

La fascinante motilité glissante de *Myxococcus xanthus*, essentielle à ses comportements sociaux

Anais Scholivet^{1*}, Katia Villion^{1*}, Linus Wilhelm^{1*}, Amel Latifi²

> Des comportements sociaux et coordonnés sont souvent observés chez des organismes vivant en communauté. Ces comportements synchronisés, tels que le mouvement, nécessitent d'être régulés. Les modalités et la nature de ces régulations, souvent très complexes, restent encore très peu connues. Les bactéries constituent un excellent modèle pour étudier ces comportements.

Myxococcus xanthus, une delta-protéobactérie aux comportements sociaux spectaculaires, a fait l'objet de nombreuses études. Elle est généralement retrouvée dans les sols, où elle est amenée à recourir à la prédation et à la sporulation pour survivre. Ces deux comportements sont sociaux chez *M. xanthus*. En effet, dès que les premières bactéries entrent en contact avec une proie, toute la colonie initie un comportement de prédation parfaitement synchronisé, résultant en l'apparition d'ondes cellulaires périodiques traversant la proie. Lorsque les nutriments sont épuisés, les bactéries forment des mégastructures multicellulaires, appelées corps fructifères, contenant de nombreuses spores.

La mise en place de ces comportements sociaux nécessite un mouvement cellulaire, dit « motilité », minutieusement régulé. *M. xanthus* possède une motilité « glissante », qualifiée d'aventurière parce qu'elle permet aux bactéries individuelles d'explorer l'environnement bordant leur colonie. Cette motilité glis-

sante, qui n'implique pas d'appendices extracellulaires, mais s'appuie sur des moteurs intracellulaires pour générer du mouvement, sera l'objet de cette nouvelle. Nous décrivons dans un premier temps la machinerie et comment elle permet le mouvement. Nous nous intéresserons ensuite à la régulation du changement de la direction des cellules en réponse à des signaux environnementaux.

Organisation de la machinerie de la motilité glissante chez *M. xanthus*

Le marquage fluorescent des protéines de la machinerie de motilité combiné au suivi intracellulaire de leurs localisations dans le temps ont permis de mettre en évidence les dynamiques de déplacement chez *M. xanthus*. Une étude récente a ainsi montré, alors que la cellule se déplace, que la machinerie de motilité reste fixe par rapport à la surface, et ce, jusqu'à ce qu'elle disparaisse au pôle postérieur de la cellule, pour être remplacée par un nouveau complexe au pôle antérieur [1] (Figure 1 A).

Assemblage de la machinerie de motilité

La machinerie de la motilité glissante de *M. xanthus* est assemblée au niveau du pôle antérieur lorsque MglA (une protéine G) [2] s'associe avec le cytosquelette d'actine de la bactérie. Cette machinerie est constituée d'un complexe protéique mobile et d'un complexe protéique fixe. Le complexe mobile comporte, au niveau de la membrane interne, le canal à proton AglRQS et

¹Master 2 Microbiologie Intégrative et Fondamentale, Aix Marseille Université, Marseille, France.

²Aix Marseille Université, CNRS, LCB UMR 7283, IMM, Marseille, France.

anais.scholivet@etu.univ-amu.fr

katia.villion@etu.univ-amu.fr

linus.wilhelm@etu.univ-amu.fr

latifi@imm.cnrs.fr

le complexe GltGJ. Ce dernier possède des domaines périplasmiques flexibles qui agissent comme des « jambes ». Il est associé au complexe cytoplasmique GltI/AgIZ/MglA, lui-même interagissant avec le cytosquelette d'actine (MreB). Le complexe fixe GltFABH est fermement enchâssé dans la membrane externe. Il possède un large domaine périplasmique et joue le rôle de « rails » pour le complexe mobile [3] (Figure 1 B).

Mouvement de la machinerie de motilité

Il a été observé qu'en présence de carbonylcyanure m-chlorophénylhydrazine, un agent qui inhibe la force proton motrice, la motilité est abolie. Ceci a permis de montrer que ce processus tire son énergie du flux de protons, généré par la respiration. Le passage de ce flux à travers le canal à proton AglRQS entraîne un changement conformationnel au niveau des « jambes » qui interagissent alors de manière cyclique avec les complexes fixes dans le périplasmique par l'intermédiaire d'un peptidoglycane. La répétition de ce mouvement permet à ce complexe mobile de se déplacer vers le pôle postérieur de la cellule le long des rails moléculaires, sur une voie hélicoïdale ayant un sens de rotation anti-horaire (Figure 1). Une fois l'interface entre la cellule et la surface atteinte, la machinerie est immobilisée localement, créant un « site d'adhérence focale » où la bactérie sécrète une substance gluante qui contient des molécules d'adhérence, pour faciliter l'attachement au substrat [4].

*Ces trois auteurs ont de façon égale participé à la rédaction de cet article.

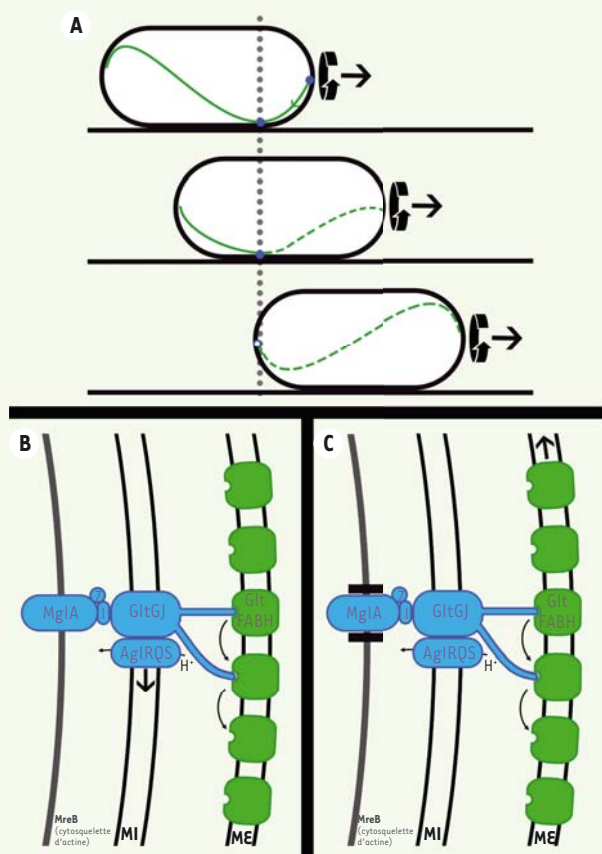


Figure 1. Représentation schématique de la motilité glissante chez *M. xanthus*. En bleu, le complexe protéique mobile. En vert, le complexe protéique fixe. **A.** Le complexe mobile devient immobile lorsqu'il entre en contact avec la surface. **B.** Le complexe mobile est libre, il se déplace le long des rails moléculaires. **C.** Le complexe mobile est ancré dans le cytosquelette d'actine, la membrane externe est déplacée. Trait plein : « rail » moléculaire GltFABH ; pointillés : « rail » moléculaire GltFABH parcouru par les protéines en mouvement ; ME : membrane externe ; MI : membrane interne.

Mouvement de la cellule

Au niveau du site d'adhérences focales, la machinerie ne se déplace plus par rapport à la surface à laquelle elle adhère, alors qu'elle continue de progresser le long des rails moléculaires. Elle est ancrée au cytosquelette d'actine, transmettant ainsi le mouvement à la membrane externe et déplaçant la cellule vers l'avant avec une rotation horaire (Figure 1 C). Ce mouvement de la membrane externe a pu être observé grâce à l'incorporation d'acides aminés fluorescents dans la paroi bactérienne [1]. La stœchiométrie des différents composants au niveau du site d'adhérences focales reste encore à déterminer.

Inévitablement, la machinerie atteint le pôle postérieur où elle est dissociée. La protéine MglB active alors la GTPase de MglA entraînant sa dissociation du cytosquelette d'actine. Cette dissociation est à l'origine du désassemblage de la totalité de la machinerie [5]. L'assemblage de nouveaux complexes au pôle antérieur, permet à la cellule de continuer d'avancer.

Régulation du changement de direction

La colonisation de la proie par *M. xanthus* nécessite des déplacements coordonnés de toute la population. Lors de ce mouvement, des déplacements aller-retour des bactéries génèrent des vagues cellulaires périodiques. Cela traduit des change-

ments de sens des cellules dont les pôles sont inversés périodiquement (Figure 2). Pour que ces inversions de déplacement, dites « réversions », se produisent, il est nécessaire que la machinerie de motilité change de pôle. Pour coordonner ces réversions, une régulation spatiale très précise est donc indispensable.

Polarité cellulaire et inversion : un système à trois protéines

La protéine MglB, impliquée dans la dissociation de la machinerie de motilité, exclut la protéine MglA du pôle où elle se situe. Le suivi de ces protéines par fluorescence a mis en évidence que l'inversion de la polarité de MglA et de MglB, et donc des pôles de la bactérie, s'opère toutes les 30 à 60 secondes [6].

Au début d'un cycle, juste après une réversion, RomR, une protéine nécessaire à la localisation polaire de MglA, se trouve au pôle antérieur. Elle s'en dissocie progressivement et MglB la séquestre au pôle postérieur où elle s'accumule. Le temps nécessaire pour que RomR se relocalise du pôle antérieur vers le pôle postérieur définit une « période de relaxation » au cours de laquelle la cellule ne peut pas effectuer de réversion. En d'autres termes, tant que RomR n'est pas suffisamment concentrée au pôle postérieur, MglA ne pourra pas s'y localiser. Quand la totalité de RomR se trouve au pôle postérieur, l'attraction de MglA vers ce pôle est alors à son maximum. La cellule est donc en condition pour effectuer la réversion des pôles. Cependant, la présence de MglB, dont l'effet inhibiteur de MglA est trop fort à surmonter, empêche le changement de polarité.

Régulation de l'oscillateur

L'inhibition de MglB par l'action d'une troisième protéine, FrzX, permet alors la réversion des pôles. En effet, les images de microscopie en temps réel utilisant la FrzX couplée à la GFP (*green fluorescent protein*) ont mis en évidence que les inversions des bactéries coïncident avec une accumulation maximale de FrzX au pôle postérieur, suggérant que cette protéine déclenche

Entretien avec Tâm Mignot mené par les auteurs de la Nouvelle

Tâm Mignot est directeur du Laboratoire de Chimie Bactérienne (LCB), une unité mixte de recherche du CNRS et de l'université d'Aix-Marseille au sein de laquelle il dirige l'équipe « Biologie cellulaire de la motilité bactérienne ». Son groupe est composé d'une vingtaine de scientifiques, comprenant des chercheurs, des ingénieurs, des techniciens de laboratoire et des doctorants. Tâm Mignot est également éditeur scientifique pour le journal *eLife*. Il a reçu plusieurs distinctions, dont le prix Bettencourt Schueller et la médaille de bronze du CNRS en 2011.



Quel est votre parcours ?

TÂM MIGNOT

J'ai grandi dans la région de Nice et j'ai passé un bac scientifique, le bac C (en 1993). Mais je n'étais bon ni en maths ni en physique. Je me suis donc orienté vers la biologie, en DEUG de sciences biologiques (en 1996) qui débouchait sur une licence de biochimie. Ensuite, j'ai fait une maîtrise de biochimie et je me suis vraiment intéressé à la microbiologie grâce à un cours de microbiologie que j'ai trouvé fascinant. Je suis donc allé faire un DEA de microbiologie à l'Institut Pasteur (en 1998) où j'ai trouvé un environnement qui m'a plu. J'ai donc fait une thèse de microbiologie. J'ai travaillé sur la bactérie responsable de l'anthrax (maladie du charbon) et sur la régulation des gènes qui permettent de modifier l'enveloppe bactérienne au cours de l'infection. J'ai soutenu ma thèse en 2002. Je suis ensuite parti en postdoc à l'université de Californie, à Berkeley, et je suis tombé par hasard sur un laboratoire qui étudiait une bactérie fascinante qui était *Myxococcus xanthus*. J'ai donc travaillé sur cette bactérie lors de mon postdoc ; c'était l'époque où l'on commençait les approches cellulaires dans les bactéries. On voyait les cellules changer de direction, mais personne n'avait encore montré qu'il existait des systèmes qui contrôlaient la localisation des protéines, qui les relocalisaient d'un pôle à l'autre. J'ai mis en place les expériences qui permettaient de voir : 1) la réversion et, en faisant ces manipulations, de voir 2) les points d'adhérences focales pour la première fois. Mon postdoctorat a duré quatre ans. Puis, je suis rentré en France où j'ai proposé au CNRS de me recruter sur un projet où j'allais poursuivre la caractérisation de ces phénomènes. J'ai pris mes fonctions de chargé de recherche en 2007 au Laboratoire de Chimie Bactérienne (LCB) où j'ai monté une équipe. En 2014, j'ai été promu directeur de recherche et je suis devenu le directeur du LCB en 2018.

Qu'est-ce qui vous a mené vers la science ?

TM : Je ne sais pas trop, je pense que j'étais plutôt littéraire. En terminale, au lycée, j'ai eu un cours sur le code génétique et là, j'ai été fasciné par son expression, l'ADN, le côté incroyablement prédictif du code. Et c'est le moment où j'ai décidé que j'allais

faire de la biologie moléculaire. Jusqu'à la maîtrise, ce n'était pas complètement clair mais à la sortie, les choses ont été assez précises : je voulais continuer dans cette voie, j'allais faire une thèse, un postdoctorat, puis tenter de me faire recruter.

Quelle est votre plus grande fierté, réussite en science ?

TM : Je pense sans arrogance que j'ai élucidé un nouveau mécanisme de mouvement dans la cellule, et c'était quelque chose d'énorme car c'est très rare d'avoir la chance de pouvoir expliquer un mécanisme aussi complexe. Évidemment, il y a des trous et il y a certainement des choses fausses dans ce qu'on propose. Mais le modèle, le principe global, je pense, est correct. Il a tenu. Quand j'ai proposé les sites d'adhérences focales en postdoctorat, il y avait beaucoup de scepticisme. De constater que 1) d'autres laboratoires le reproduisaient, et 2) de trouver des molécules, un moteur, des adhésines, et qu'on arrivait à construire une machine qui résistait à l'analyse, alors notre hypothèse de départ était suffisamment « costaute » pour arriver à travailler dessus. Et, finalement, arriver à publier dans *Nature* en 2016 le mécanisme qui est maintenant ancré dans les bouquins, j'avoue que c'est une sacrée fierté au niveau professionnel. En sachant qu'il y a eu beaucoup de doutes, mais j'étais toujours très confiant, parce que si je vois ces foyers fixes dans une cellule en mouvement c'est qu'ils sont en mouvements opposés, c'est de la logique pure. Et s'ils sont en mouvement opposés alors forcément, ils sont propulseurs. Cela m'a donné une très grosse base de confiance sur la solidité du projet. Ça va être la fin d'un chapitre pour moi, on ne va pas aller beaucoup plus loin, maintenant on va aller vers les mouvements de groupe.

Quelle est la chose la plus étonnante que vous ayez découverte ?

TM : Ça, je l'ai fait en thèse où j'ai réalisé que l'on doit regarder les choses avec la plus grande ouverture d'esprit possible. Cela m'est arrivé à deux reprises dans ma carrière. Pendant ma thèse, je regardais, par exemple, l'expression d'un gène et il y avait deux protéines qui semblaient faire la même chose, et on se demandait quels étaient leurs rôles respectifs. Donc j'étais parti sur l'étude de la régulation de ces protéines et je voyais qu'il y avait des effets de régulation, je voyais des choses intéressantes mais cela ne m'expliquait toujours rien par rapport à ces protéines. Puis un jour, je regarde ces deux courbes et c'était hyper simple : il y en avait une exprimée à un moment puis l'autre exprimée après. Et d'un coup ça me frappe : elles font la même chose mais ne sont pas exprimées au même moment, c'est qu'il y en a une qui remplace l'autre. Qu'importe le mécanisme et son importance, l'essentiel est surtout de réaliser que j'avais eu ces données pendant trois mois sous les yeux et soudain en regardant les courbes, je change d'état d'esprit : je ne regarde plus avec en tête la question initiale, et, d'un coup, cela m'apparaît... c'est là que ma thèse a commencé. Donc, parfois il faut sortir du cadre, se poser une autre question, regarder ce qu'on a sous les yeux et c'est là où l'on peut découvrir des choses. Il faut être préparé à cela.

l'inversion cellulaire [6]. Ce régulateur central de la réversion est activé par des signaux environnementaux dont la nature

reste encore à déterminer. Ces signaux sont transduits par un récepteur (FrzCD) et une histidine kinase qui lui est associée

(FrzE), qui phosphoryle alors FrzX (FrzX-P). Sous sa forme active, FrzX-P interagit alors avec MglB au pôle postérieur des cellules

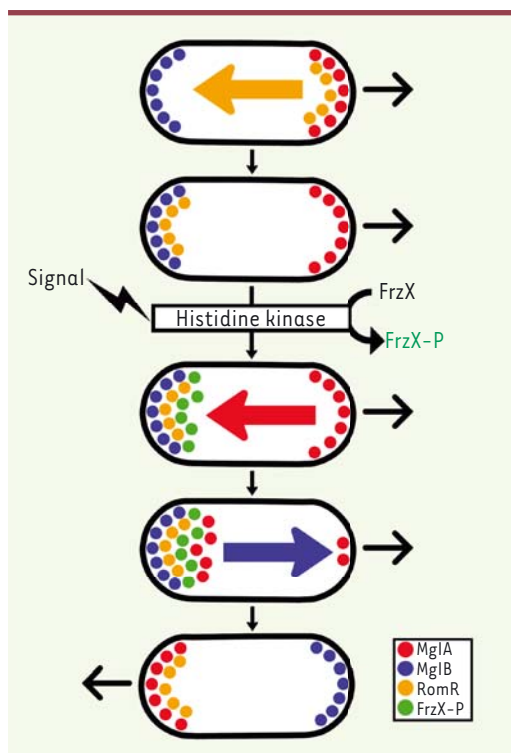


Figure 2. Représentation schématique de la régulation de l'inversion de la polarité (réversion) par l'oscillateur RomR. En début de cycle, MglA (en rouge) et RomR (en jaune) se localisent au pôle antérieur et MglB (en bleu) au pôle postérieur. RomR se relocalise et s'accumule vers le pôle postérieur séquestrée par MglB, établissant la période de relaxation. Un signal environnemental active FrzX par phosphorylation, qui génère FrzX-P (en vert). Il se localise au pôle postérieur et permet à MglA d'inhiber et de délocaliser MglB pour rejoindre RomR à ce pôle. Ainsi, la localisation polaire de MglA et MglB est inversée, la cellule change alors de sens.

question centrale de la biologie pourrait être étudiée davantage. Le développement récent d'un outil d'imagerie permettant d'observer la morphologie, la motilité de macrocolonies de *M. xanthus*, tout en permettant le suivi d'individus isolés au sein de cette population, contribuera sans doute à des avancées majeures dans notre connaissance des principes globaux qui régissent les mouvements collectifs et coordonnés chez les organismes vivants. ♦

The fascinating gliding motility of *Myxococcus xanthus*, essential to its social behaviours

LIENS D'INTÉRÊT

Les auteurs déclarent n'avoir aucun lien d'intérêt concernant les données publiées dans cet article.

RÉFÉRENCES

1. Faure LM, Fiche JB, Espinosa L, et al. The mechanism of force transmission at bacterial focal adhesion complexes. *Nature* 2016 ; 539 : 530-35.
2. Hepler JR, Gilman AG. G proteins. *Trends Biochem Sci* 1992 ; 10 : 383-7.
3. Sun M, Wartel M, Cascales E, et al. Motor-driven intracellular transport powers bacterial gliding motility. *Proc Natl Acad Sci USA* 2011 ; 108 : 7559-64.
4. Ducret A, Valignat MP, Mouhamar F, et al. Wet-surface enhanced ellipsometric contrast microscopy identifies slime as a major adhesion factor during bacterial surface motility. *Proc Natl Acad Sci USA* 2012 ; 109 : 10036-41.
5. Islam ST, Mignot T. The mysterious nature of bacterial surface (gliding) motility: a focal adhesion-based mechanism in *Myxococcus xanthus*. *Semin Cell Dev Biol* 2015 ; 46 : 143-54.
6. Guzzo M, Murray SM, Martineau E, et al. A gated relaxation oscillator mediated by FrzX controls morphogenetic movements in *Myxococcus xanthus*. *Nat Microbiol* 2018 ; 3 : 948-59.

et bloque ainsi son activité, permettant à MglA de s'accumuler et à la bactérie d'inverser sa polarité (réversion). En réponse aux informations perçues dans son environnement, la fréquence de réversion de la bactérie est donc rythmée 1) par l'oscillation de RomR qui en détermine la période, et 2) par le régulateur FrzX qui en contrôle le déclenchement.

De l'individu à la communauté

Les mécanismes permettant le mouvement d'une cellule sont maintenant

bien connus chez *M. xanthus*, mais comment permettent-ils de synchroniser des comportements de populations pouvant comprendre des millions d'individus ? Dans un groupe d'individus, qu'ils soient macro- ou microscopiques, des événements qui rythment les populations sont observés. Par exemple, dans un troupeau de moutons, il suffit qu'une porte s'ouvre et qu'un individu sorte de l'enclos pour que le reste du troupeau le suive très rapidement. Comment cette information locale est-elle si rapidement transmise à un tel nombre d'individus ? Cette