

LA PAROI BACTÉRIENNE

J.-M. GHUYSEN

INTRODUCTION

C'est dans les années 1950 que des parois bactériennes ont été isolées pour la première fois à partir de bactéries brisées mécaniquement. Les parois isolées à partir de cocci étaient sphériques, celles isolées à partir de bacilles étaient cylindriques. On découvrit bientôt que la forme et la rigidité de la paroi bactérienne étaient dues à la présence d'un polymère particulier qui, selon les espèces bactériennes, représentait en poids de 5 à environ 90 % des parois isolées.

A l'opposé d'autres structures cellulaires de support qui sont constituées d' α -cellulose, d'hémicellulose, de glucane, de mannane ou de chitine, la matrice rigide de la paroi bactérienne est caractérisée par un hétéropolymère composé essentiellement de deux N-acétylhexosamines différentes et de quatre à huit (au maximum) acides aminés différents. Cet hétéropolymère est ubiquiste dans le monde bactérien, à l'exception toutefois des formes L, des *Mycoplasma* et des bactéries halophiles.

Les deux N-acétylhexosamines ont été identifiées comme étant : le 2-acétamido-2-désoxy-D-glucose (c'est-à-dire la N-acétyl-D-glucosamine) et un sucre jusque-là inconnu, le 2-acétamido-2-désoxy-3-O-(D-1-carboxyéthyl)-D-glucose (c'est-à-dire l'éther 3-O-D-lactique de la N-acétyl-D-glucosamine ou acide N-acétylmuramique). En plus de ces deux N-acétylhexosamines, la L-alanine, la D-alanine et l'acide D-glutamique sont invariablement présents, généralement associés à un acide diaminé, le plus souvent la L-lysine ou l'acide *meso*-diaminopimélique. L'acide muramique, la D-alanine, l'acide D-glutamique et l'acide *meso*-diaminopimélique sont uniquement rencontrés chez les procaryotes. La présence de ces composés démontre donc le caractère unique des parois bactériennes. De plus, la N-acétylglucosamine, l'acide N-acétylmuramique, la L-alanine, la D-alanine, l'acide D-glutamique et la L-lysine ou l'acide *meso*-diaminopimélique sont habituellement présents en quantités équimolaires. De cette observation, on a tiré la conclusion que la partie rigide de la paroi bactérienne résultait probablement de la polymérisation d'unités disaccharides-peptides. Pour cette raison, le polymère a été appelé peptidoglycane (glycopeptide, mucopoléptide, glycosaminopeptide ou muréine étant synonymes de peptidoglycane).

Le peptidoglycane permet à la cellule bactérienne de se développer normalement dans des conditions de milieu qui sont le plus souvent hypotoniques. Ceci a été démontré très tôt de diverses façons. Par exemple, le lysozyme de blanc d'œuf de poule, lorsqu'il est ajouté à des bactéries au repos ou, dans certains cas, à des bactéries en croissance, et la pénicilline, lorsqu'elle est ajoutée à des bactéries en croissance, causent l'un et l'autre la dissolution de ces bactéries. Cependant, on peut empêcher la lyse, ou au moins la retarder pour une certaine période de temps, en ajoutant au milieu externe un

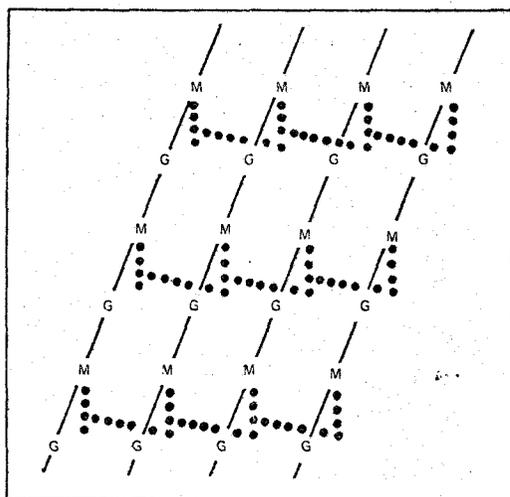


Figure 1 — Représentation schématique d'un peptidoglycane pariétal. Les chaînes de glycane sont composées de N-acétylglucosamine (G) et d'acide N-acétylmuramique (M). Les points verticaux partant de M représentent les unités tétrapeptidiques. Les points horizontaux représentent les ponts interpeptidiques.

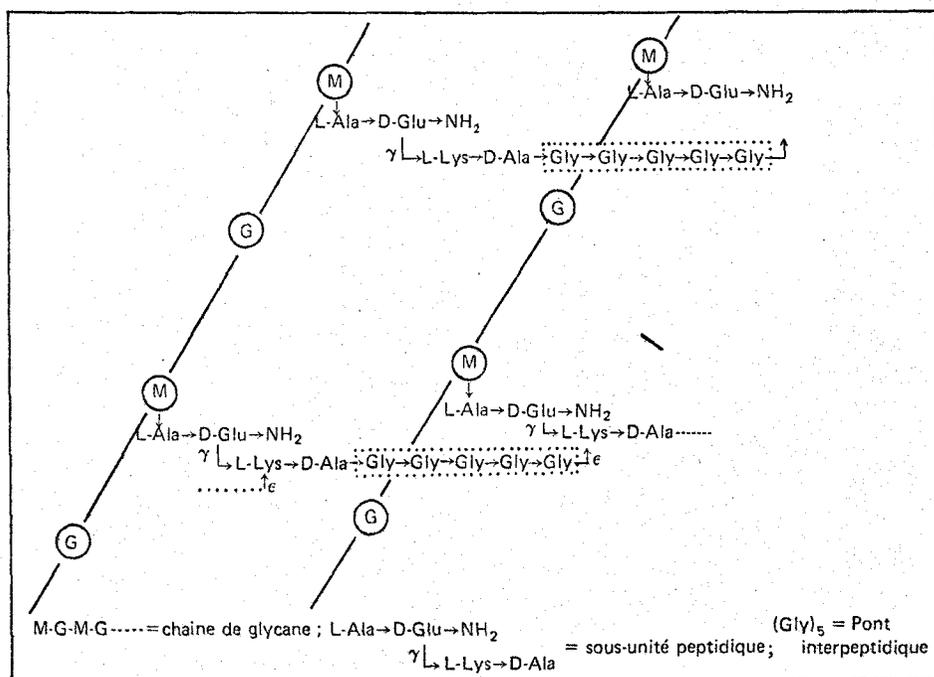


Figure 2 — Structure primaire du peptidoglycane de la paroi de *Staphylococcus aureus*. Les flèches indiquent la direction CO → NH des liaisons. Le pont interpeptidique — dans ce cas, un pentaglycine — est entouré de pointillés.

soluté, auquel la cellule est imperméable, à une concentration équilibrant approximativement la pression osmotique intracellulaire. Dans ces conditions, les bactéries se transforment en corps sphériques. Ces corps sont physiologiquement actifs, mais osmotiquement fragiles. Ils sont appelés protoplastes ou sphéropastes. Ce sont des bactéries sans parois, ou des bactéries dont l'enveloppe cellulaire ne contient plus de peptidoglycane ou contient un peptidoglycane qui a perdu sa rigidité et son insolubilité. L'aspect sphérique et la fragilité osmotique des protoplastes et des sphéropastes ont généralement été considérés comme étant la preuve qu'un peptidoglycane intact était le support mécanique principal de la cellule bactérienne. La cible atteinte par le lysozyme et par la pénicilline est donc la même mais les mécanismes d'action de ces deux agents antibactériens sont différents. Le lysozyme est un enzyme qui hydrolyse le peptidoglycane en fragments solubles. La pénicilline est un inhibiteur de la biosynthèse de ce peptidoglycane.

Une revue très complète de ces études préliminaires a été écrite par Salton en 1964 [1]. Ces études ont ouvert la voie à d'autres investigations qui se sont développées dans de multiples directions et qui ont pour objet : la topologie du peptidoglycane dans l'enveloppe bactérienne, sa structure chimique, sa biosynthèse, le mécanisme d'action de plusieurs antibiotiques, la croissance et la division cellulaire. Un certain nombre de questions fondamentales n'ont pas encore trouvé de réponses satisfaisantes. Une série de monographies et de revues récentes résument une grande partie de cette information (voir bibliographie).

STRUCTURE DU PEPTIDOGLYCANE

Structure primaire du peptidoglycane

Le peptidoglycane pariétal peut être considéré comme une macromolécule unique formant un réseau plus ou moins continu autour de la barrière de perméabilité de la cellule. Ce réseau est essentiellement composé de chaînes de glycane reliées entre elles par l'intermédiaire de chaînes peptidiques (figures 1 et 2). En dépit de nombreuses variations, on constate une remarquable unité de structure des peptidoglycans pariétaux dans le monde bactérien.

Le glycane

La partie glycane du peptidoglycane consiste en une chaîne linéaire de résidus de N-acétylglucosamine et d'acide N-acétylmuramique. Ces résidus sont sous la forme pyranoside et sont reliés entre eux par des liaisons β -1,4 (figure 3). Cette structure est celle de la chitine dans laquelle 50 % des résidus de N-acétylglucosamine seraient substitués sur le C-3 par un groupement lactyle ayant la configuration D. N-acétylglucosamine et acide N-acétylmuramique se suivent de façon alternée. Les groupements carboxyles des résidus d'acide N-acétylmuramique fournissent les points d'attachement des chaînes peptidiques.

On connaît un certain nombre de variations affectant la structure des chaînes de glycane (figure 4) :

a) Chez plusieurs bactéries gram-positives et chez la bactérie gram-négative *Proteus vulgaris*, certains des résidus d'acide N-acétylmuramique portent un groupement O-acétyle sur le C-6.

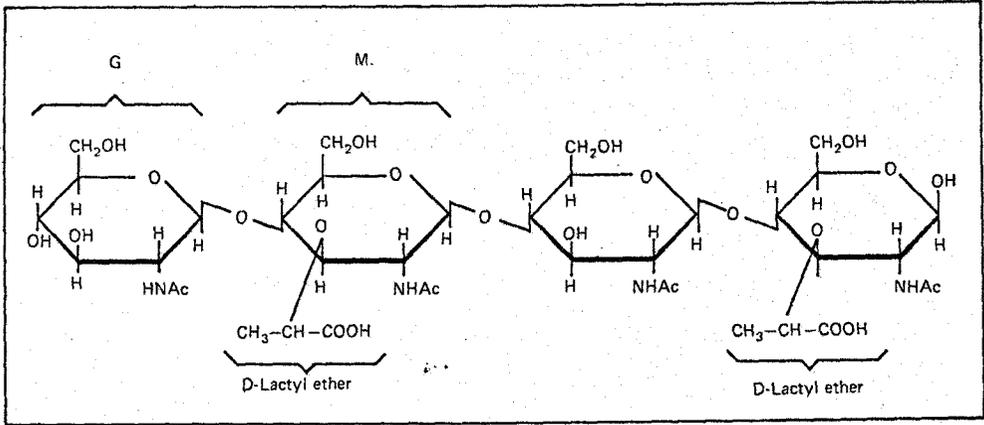


Figure 3 - Une portion de chaîne de glycane. Dans un réseau complet, les groupements COOH des résidus d'acide N-acétylmuramique sont substitués par les peptides.

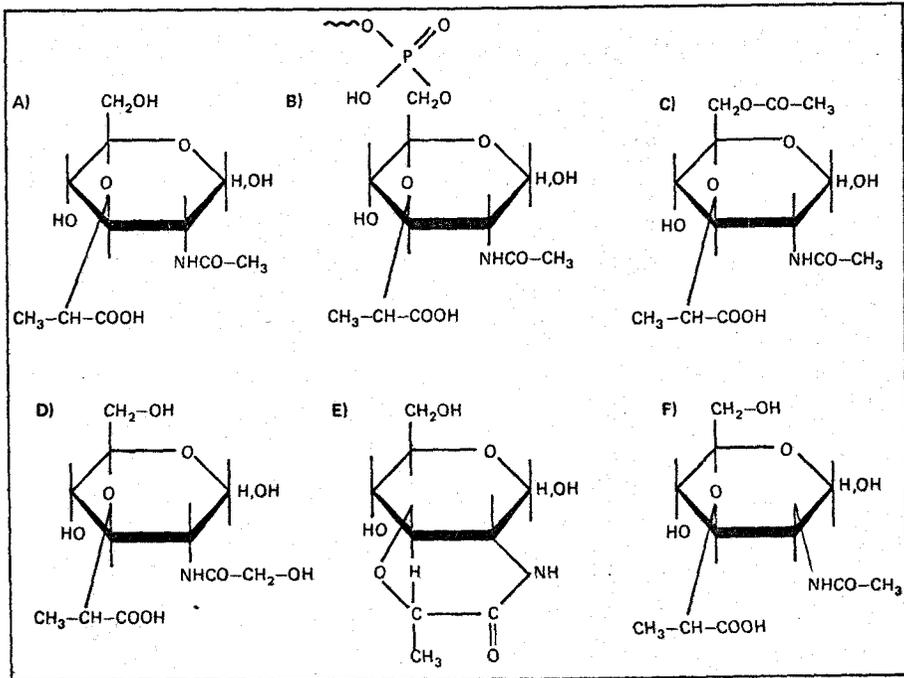


Figure 4 - Variations des chaînes de glycane pouvant affecter certains résidus d'acide muramique. A) L'acide N-acétyl-glucomuramique habituel. B) Substitution du C-6 par un groupement phosphodiester. C) Substitution du C-6 par un groupement acétyle. D) Acide N-glycolylmuramique. E) Forme lactame. F) Acide N-acétyl-manno-muramique.

nopimélique ou l'acide *meso*-diaminopimélique. Lorsque l'acide *meso*-diaminopimélique est en position R_3 , le groupement aminé lié à l'acide D-glutamique et le groupement carboxyle lié à la D-alanine sont l'un et l'autre localisés sur le même carbone L. D'autres variations que celles affectant le résidu $L-R_3$ sont également connues.

a) Le groupement α -carboxyle de l'acide D-glutamique peut être libre, amidé, substitué par un résidu glycine en position C-terminale ou par un résidu glycine-amide.

b) Le groupement carboxyle de l'acide diaminopimélique qui n'est pas impliqué dans une liaison peptidique peut être libre ou substitué par un groupement amide.

c) L'acide *threo*-3-hydroxyglutamique peut remplacer l'acide glutamique.

d) La L-alanine à la position N-terminale du tétrapeptide peut être remplacée par la L-sérine ou la glycine.

Toutes ces variations n'altèrent pas de façon profonde la structure de base du tétrapeptide. Sauf lorsque la glycine est en position N-terminale, le squelette des unités tétrapeptidiques de tous les peptidoglycanes bactériens a une séquence L-D-L-D.

Les ponts interpeptidiques

Les unités tétrapeptidiques appartenant à des chaînes de glycane adjacentes sont à leur tour reliées par l'intermédiaire de "ponts" spécialisés. Le groupement carboxyle du résidu D-alanine C-terminal d'une unité tétrapeptidique est toujours impliqué dans la liaison interpeptidique avec une seconde unité tétrapeptidique. Cependant, des variations importantes dans ces ponts interpeptidiques sont observées selon les espèces bactériennes. La composition en acides aminés et la localisation des ponts interpeptidiques ont permis de diviser les espèces bactériennes en quatre chémotypes.

Dans les chémotypes I, II et III, les ponts interpeptidiques s'étendent du résidu D-alanine C-terminal d'un peptide au groupement ω -aminé du résidu diaminé $L-R_3$ d'un second peptide. Chez les peptidoglycanes de chémotype I, les ponts interpeptidiques sont très courts ; ils consistent en des liaisons amidiques directes N^{ω} -(D-alanyl)- $L-R_3$. Chez beaucoup de *Bacillaceae* et chez les bactéries gram-négatives, le pont interpeptidique est une liaison D-alanyl-(D)-acide-*meso*-diaminopimélique (figure 6).

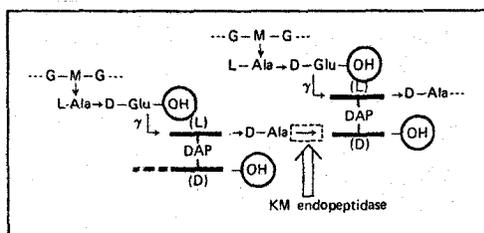


Figure 6 — Un peptidoglycane de chémotype I contenant l'acide *meso*-diaminopimélique en position $L-R_3$ (*Escherichia coli*, *Bacillus megaterium* KM). La flèche indique le site d'action d'un enzyme lytique.

Dans les peptidoglycanes de chémotype II, le pont interpeptidique est réalisé par l'intermédiaire d'un résidu supplémentaire d'acide aminé ou par l'intermédiaire d'une chaîne peptidique. Les variations semblent illimitées. Quelques exemples sont donnés dans la figure 7.

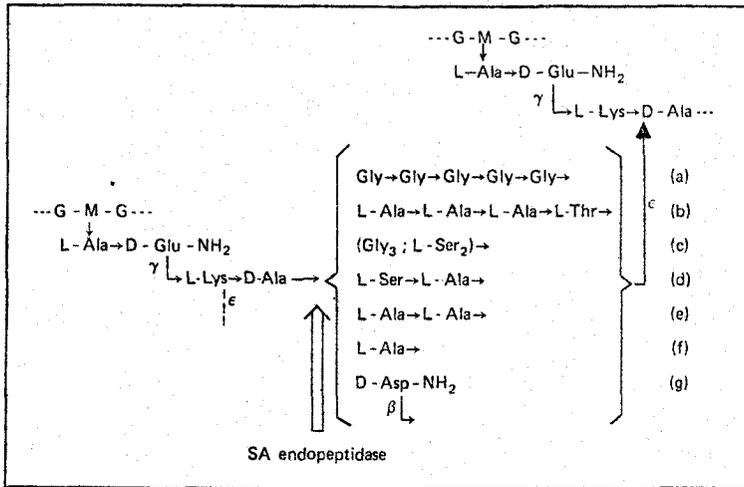


Figure 7 – Peptidoglycanes de chémotype II contenant la L-lysine en position L-R₃. a) *Staphylococcus aureus* Copenhagen ; b) *Micrococcus roseus* R27 ; c) *Staphylococcus epidermidis* Texas 26 ; d) *Lactobacillus viridescens* ; e) *Streptococcus pyogenes* Groupe A type 14 ; f) *Arthrobacter crystallopoietes* ; g) *Streptococcus faecalis* (*faecium*) ATCC 9790 et *Lactobacillus casei* RO94. La flèche indique le site d'action d'un enzyme lytique (testé sur les parois a, b, e et g).

Dans les peptidoglycanes de chémotype III, le pont interpeptidique est composé d'un ou de plusieurs peptides, chacun d'entre eux ayant la même séquence en acides aminés que l'unité peptidique qui substitue les résidus d'acide muramique (figure 8). Ce chémotype est rencontré chez *Micrococcus lysodeikticus* et chez certains autres *Micrococcaceae*. Chez ce chémotype, des liaisons D-alanyl-L-alanine et N^ε-(D-alanyl)-L-lysine sont impliquées dans le pont interpeptidique. Les liaisons D-alanyl-L-alanine sont sensibles à l'enzyme de *Myxobacter* AL1 et les liaisons N^ε-(D-alanyl)-L-lysine sont sensibles à l'endo-peptidase ML de *Streptomyces*.

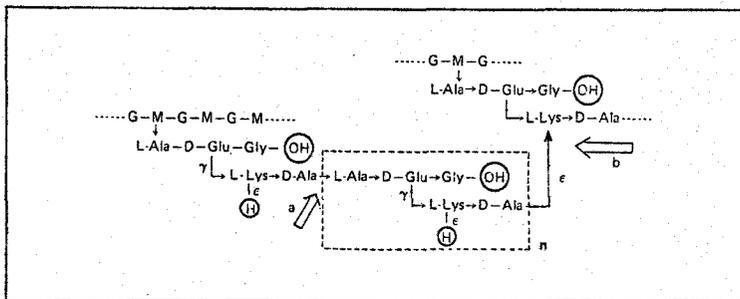


Figure 8 – Un peptidoglycane de chémotype III (*Micrococcus lysodeikticus*). Les sites d'action de certains enzymes lytiques sont indiqués par les flèches : a) enzyme de *Myxobacter* AL1 ; b) enzyme ML de *Streptomyces*.

Dans les peptidoglycane de chémotype IV, les ponts interpeptidiques s'étendent entre le résidu D-alanine C-terminal d'une unité peptidique et le groupement α -carboxyle de l'acide D-glutamique d'une autre unité peptidique, c'est-à-dire entre deux groupements carboxyles. Ce type de pont implique donc nécessairement l'intervention d'un résidu diaminé ou d'un peptide contenant un résidu diaminé. Un exemple est donné dans la figure 9.

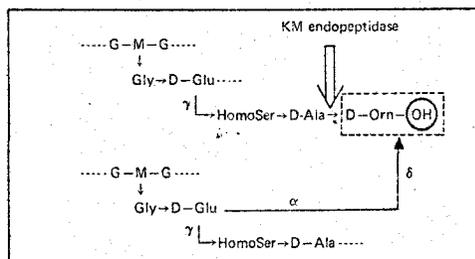


Figure 9 — Un peptidoglycane de chémotype IV (*Corynebacterium poinsettiae*). La flèche indique le site d'action d'un enzyme lytique.

L'établissement de la structure primaire des peptidoglycane bactériens au moyen d'hydrolyses acide ou basique n'eût été une entreprise impossible pour deux raisons. En effet, cette énorme molécule est construite à partir d'un nombre très limité de constituants. De plus, elle est le plus souvent associée covalentiellement à d'autres polymères, ce qui confère à l'ensemble une complexité extraordinaire. L'obtention d'une série d'agents lytiques capables d'hydrolyser sélectivement différentes liaisons chimiques dans le peptidoglycane était donc essentielle.

Enzymes lytiques du peptidoglycane

Trois classes d'enzymes lytiques ont été découvertes : des glycosidases, des N-acétylmuramyl-L-alanine amidases et des endopeptidases (figure 10). Les glycosidases peuvent être des endo-N-acétylmuramidases ou des endo-N-acétylglucosaminidases. Les endo-N-acétylmuramidases (par exemple, le lysozyme) hydrolysent les liaisons β -1,4-N-acétylmuramyl-N-acétylglucosamine. Elles produisent des fragments dont l'extrémité réductrice est occupée par un résidu d'acide N-acétylmuramique. Les endo-N-acétylglucosaminidases hydrolysent les liaisons β -1,4-N-acétylglucosaminyl-acide N-acétylmuramique. Elles produisent des fragments dont les extrémités réductrices sont occupées par des résidus de N-acétylglucosamine.

Les N-acétylmuramyl-L-alanine amidases hydrolysent spécifiquement les liaisons entre le groupement carboxyle des acides N-acétylmuramiques des chaînes de glycane et l'extrémité N-terminale des unités peptidiques.

Certaines endopeptidases hydrolysent des liaisons peptidiques à l'intérieur des ponts peptidiques des peptidoglycane de chémotype II. D'autres endopeptidases hydrolysent spécifiquement les liaisons peptidiques qui impliquent le résidu D-alanine C-terminal des unités peptidiques. Les figures 6-9 montrent les sites d'action de certains de ces enzymes. L'utilisation de ces enzymes dans l'établissement de la structure du peptidoglycane bactérien est discutée en détail dans une revue [3].

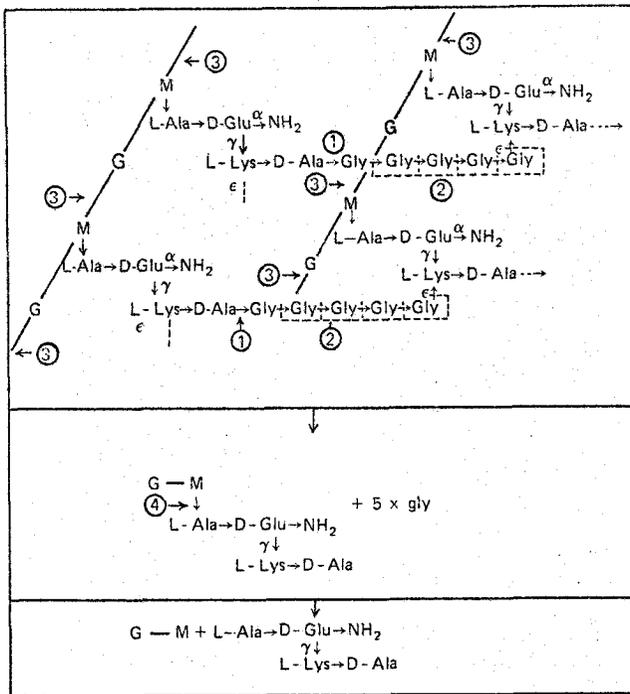


Figure 10 – Dégradation séquentielle du peptidoglycane de *Staphylococcus aureus*. Copenhagen.
 1/ Site d'action de la SA endopeptidase ; 2/ dégradation par une aminopeptidase des ponts préalablement ouverts ; 3/ dégradation des chaînes de glycane par une endo-N-acétylmuramidase ; 4/ site d'action de la N-acétylmuramyl-L-alanine amidase.

Dimension du peptidoglycane

La solubilisation du peptidoglycane bactérien peut être provoquée par l'hydrolyse de n'importe quel type de liaison pour autant qu'un nombre suffisant de ces liaisons soient effectivement hydrolysées. Cette propriété est évidemment le résultat de la structure réticulaire des peptidoglycanes. Les premières idées que l'on avait sur l'organisation des peptidoglycanes étaient que les chaînes de glycane étaient très longues et entouraient complètement la cellule bactérienne. Ces idées ne sont plus acceptées et l'on sait que de nombreux groupements terminaux sont présents à la fois dans la partie glycane et la partie peptidique des peptidoglycanes. Ces groupements terminaux sont globalement le reflet de la dynamique de la croissance bactérienne et sont le résultat de l'implication d'autolysines dans la biosynthèse de la paroi (voir plus loin).

La longueur moyenne des chaînes de peptidoglycane a été estimée dans un certain nombre de cas. Ces chaînes sont des systèmes polydisperses. En moyenne, elles contiennent de 20 à 100 résidus de N-acéthylhexosamine. Il ne semble pas qu'il existe de relation entre la forme de la paroi bactérienne et la longueur moyenne des chaînes de glycane.

Le degré de polymérisation de la partie peptidique a aussi été estimé. Chez *Escherichia coli*, le peptidoglycane est une structure très lâche (figure 11). Environ 50 % des

unités peptidiques sont libres et les autres unités forment des dimères. Chez *Lactobacillus acidophilus* 63 AM Gasser, 10 % des unités peptidiques sont présentes sous la forme de monomères, 37 % sous la forme de dimères et 30 % sous la forme de trimères. Le peptidoglycane de *S. aureus* est le système réticulaire le plus serré que l'on connaisse (figure 2). Même dans ce cas, la dimension moyenne du peptide n'excède pas celle d'un décimère.

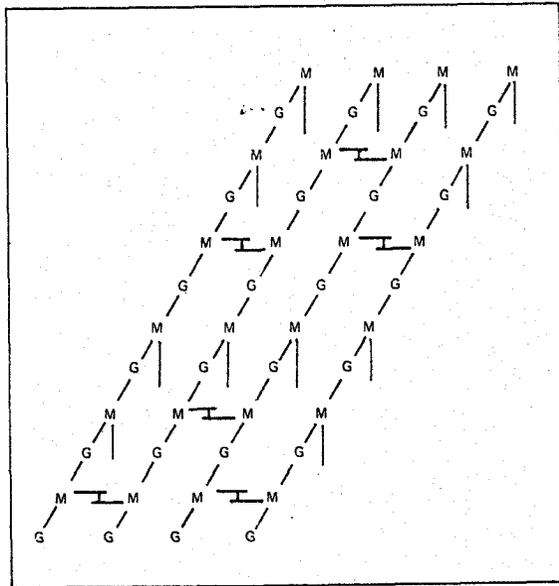


Figure 11 — Représentation schématique du peptidoglycane d'*Escherichia coli*. Les traits pleins représentent les chaînes peptidiques.

Le degré de compacité du réseau constitué par le peptidoglycane dépend non seulement de la fréquence avec laquelle des unités peptidiques sont reliées entre elles, mais aussi de la fréquence avec laquelle les chaînes de glycane sont substituées par les unités peptidiques. Le peptidoglycane de *M. lysodeikticus* est un autre exemple de réseau lâche (figure 8). Dans ce cas, beaucoup de résidus d'acide N-acétylmuramique ont leurs groupements D-lactyles non substitués.

L'organisation tridimensionnelle des peptidoglycans n'est pas connue. Des modèles moléculaires ont été construits qui suggèrent différentes conformations. Dans tous ces modèles, la structure des chaînes de glycane est construite selon celle trouvée dans la chitine. Si l'on admet une telle conformation, on constate que les chaînes latérales D-lactyl-peptide sont alignées parallèlement les unes aux autres le long d'un squelette hydrocarboné linéaire relativement rigide. On constate aussi que les C-6 des résidus d'acide N-acétylmuramique sont librement exposés sur l'autre face de ces squelettes hydrocarbonés et sont, par conséquent, disponibles pour diverses substitutions, soit par des groupements acétyles, soit par des fonctions phosphodiesters.

Une conformation en α -hélice ne peut être attribuée aux unités peptidiques. En effet, la liaison entre l'acide D-glutamique et le résidu L-R₃ est toujours γ et, par conséquent, tous les atomes de carbone de cet acide glutamique sont impliqués dans la chaîne. Un

haut degré d'association par ponts hydrogène est possible si l'on donne au peptide une conformation β en feuillets plissés. A ce jour, on ne dispose d'aucune preuve expérimentale permettant de choisir parmi les différents modèles proposés. On admet que les liaisons par ponts hydrogène, à la fois dans le glycane et dans le peptide, jouent probablement un rôle important.

L'ENVELOPPE CELLULAIRE BACTERIENNE

Le peptidoglycane est toujours localisé à l'extérieur de la barrière de perméabilité de la cellule bactérienne. La paroi bactérienne peut donc être définie comme étant l'organe cellulaire localisé à l'extérieur de la membrane cytoplasmique et contenant le peptidoglycane. La paroi est une structure exocellulaire.

Une différence importante entre les bactéries gram-négatives et les bactéries gram-positives réside dans le fait que les bactéries gram-négatives contiennent une membrane L externe dont la structure est très semblable à celle de la membrane cytoplasmique interne. La membrane L externe présente cependant des propriétés de perméabilité qui lui sont propres et contient des lipopolysaccharides et des lipoprotéines particuliers. La structure complexe de l'enveloppe des bactéries gram-négatives est bien visible lorsque des couches fines sont examinées au microscope électronique (figure 12). Une couche dense aux électrons (couche G2) est séparée de la membrane externe L par une couche transparente G1, et de la membrane cytoplasmique interne par une autre couche transparente M (cette terminologie est celle proposée par De Petris). Le peptidoglycane est localisé dans la couche G2 qui apparaît comme une ligne opaque de 15-20 nm d'épaisseur. Cette couche G2 a été isolée pour la première fois à partir d'*Escherichia coli*. C'est une structure rigide dans laquelle des granules de lipoprotéine sont covalentiellement associés au peptidoglycane. Chez *Escherichia coli*, un dipeptide lysyl-arginine substitue certains résidus d'acide meso-diaminopimélique du peptidoglycane qui sont utilisés pour lier covalentiellement les granules de lipoprotéine au peptidoglycane de base. En moyenne une molécule lipoprotéinique existerait pour dix unités du peptidoglycane. Ces granules peuvent être éliminés par l'action d'enzymes protéolytiques. Chez les bactéries gram-négatives, il semble bien que cette lipoprotéine structurale soit le seul polymère de l'enveloppe cellulaire lié covalentiellement au peptidoglycane. On ne sait pas si la membrane cytoplasmique et la couche G2 sont physiquement associées l'une à l'autre. Il se peut que des "sites d'adhésion" existent en divers endroits de la région M. On dispose de techniques qui, après dégradation enzymatique de la couche G2, permettent de séparer la membrane interne de la membrane externe et de purifier chacun de ces organites.

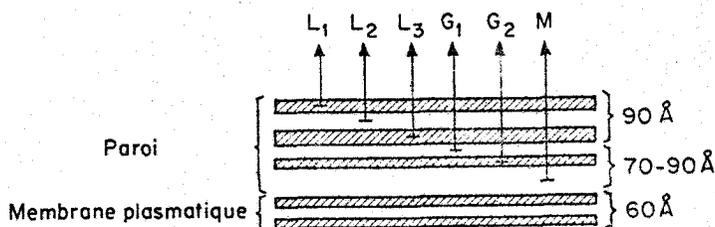


Figure 12 - Représentation schématique de la structure de l'enveloppe cellulaire de *Proteus vulgaris* P18.

Les lipopolysaccharides de la membrane externe L des bactéries gram-négatives ont été étudiés en détail. Ils sont responsables, du moins en ordre principal, de la spécificité antigénique somatique (O) de ces bactéries. Parmi les bactéries du groupe entérique, la spécificité est extrêmement élevée et permet de distinguer un très grand nombre de sérotypes. Ces sérotypes diffèrent les uns des autres par la structure et la spécificité antigénique de leurs lipopolysaccharides. Par exemple, il existe plus de 1 000 sérotypes spécifiques dans le genre *Salmonella*. Les lipopolysaccharides ont aussi des propriétés "endotoxiques" (fièvre, choc, hémorragie). Ils peuvent être extraits par diverses techniques et séparés en une fraction lipidique (lipide A) et une fraction polysaccharidique. Ces fractions séparées n'ont pas d'activité endotoxique. Les polysaccharides contiennent un noyau commun formé de glucose, galactose, N-acétylglucosamine, 2-céto-3-désoxyoctonate et heptose, sur lequel sont branchées des chaînes latérales qui confèrent les diverses spécificités sérologiques. Les mutants R qui ont perdu la spécificité antigénique du sérotype dont ils proviennent ont des polysaccharides réduits au noyau commun.

L'enveloppe cellulaire des bactéries gram-positives ne contient pas de membrane externe L. La paroi est considérablement plus épaisse (50-150 nm) que la couche G2 équivalente des bactéries gram-négatives. Elle contient en poids de 40 à 90 % de peptidoglycane. Une variété presque infinie de polysaccharides chargés négativement et de polymères de polyol-phosphate (collectivement appelés acides téichoïques) sont covalentiellement associés au peptidoglycane. Ces polymères sont fortement antigéniques. Souvent, mais pas toujours, la liaison entre le peptidoglycane et les autres polymères pariétaux se fait *via* des groupements phosphodiester qui substituent le C-6 de certains résidus d'acide N-acétylmuramique.

Les acides téichoïques sont des polymères linéaires de polyol-phosphate. Le polyol est le plus souvent du glycérol ou du ribitol. La structure de base des acides téichoïques peut être modifiée par diverses substitutions des groupements OH des résidus de polyol. Ces substituants peuvent être de la D-alanine ou divers hydrates de carbone, comme par exemple le glucose ou la N-acétyl-glucosamine.

Les antigènes de surface des bactéries gram-positives ont deux propriétés remarquables, qui sont leur "mobilité" et le rôle important qu'ils jouent en "fournissant" à la membrane cytoplasmique les ions Mg^{2+} qui lui sont nécessaires. Les conditions de culture influencent fortement la composition des parois des bactéries gram-positives en modifiant la proportion relative entre polysaccharides et acides téichoïques. Une telle "mobilité" a lieu en dépit du fait que polysaccharides et acides téichoïques sont liés covalentiellement au peptidoglycane. Ceci implique nécessairement la présence d'un système assurant un *turn-over* rapide. L'importance physiologique de ce phénomène a été mise en évidence par la démonstration du rôle important que les acides téichoïques semblent bien jouer dans l'activité et la stabilité de la membrane. L'acide téichoïque de la paroi assurerait l'adsorption des ions Mg^{2+} présents dans le milieu environnant et leur transfert à un second acide téichoïque (polyglycérol-phosphate), localisé dans la région périplasmique de la cellule ou associé à la membrane cytoplasmique. Ces deux polymères anioniques, pariétaux et membranaires, fonctionneraient donc comme un système intégré d'échangeurs ioniques entre l'extérieur de la cellule et la membrane. Les bactéries gram-négatives possèdent également des acides téichoïques polyglycérol-phosphate "membranaires" mais sont dépourvus d'acides téichoïques polyribitol-phosphate "pariétaux". On suppose que d'autres polymères de l'enveloppe des bactéries gram-négatives jouent un rôle similaire à celui des acides téichoïques des bactéries gram-positives dans la fixation des cations.

BIOSYNTHESE DU PEPTIDOGLYCANE

Les trois étapes

La biosynthèse du peptidoglycane peut être divisée en trois étapes, chacune d'entre elles ayant lieu dans un site différent de la cellule : dans le cytoplasme, sur la membrane, dans la paroi. Les précurseurs du peptidoglycane, fabriqués sur un transporteur cytoplasmique (étape n° 1), sont ensuite transférés sur un transporteur lipidique de la membrane (étape n° 2) et sont enfin intégrés dans le peptidoglycane de la paroi en expansion (étape n° 3). Durant la dernière étape, le peptidoglycane naissant s'insolubilise et s'associe aux autres polymères pariétaux. La figure 13 montre les principales réactions qui assurent la synthèse d'un peptidoglycane de chémotype I. Dans ce cas, aucun acide aminé supplémentaire n'est impliqué dans les ponts interpeptidiques. L'incorporation d'acides aminés dans les ponts interpeptidiques des peptidoglycans appartenant à un chémotype autre que le chémotype I, et l'addition de groupements spécifiques tels que des groupements amides, seront discutées séparément.

Synthèse des précurseurs nucléotidiques

Les deux premières réactions sont des phosphorylations de l'UMP et de l'UDP par l'ATP pour produire de l'UTP. L'UTP réagit ensuite avec l' α -D-N-acétylglucosamine-1-phosphate pour produire l'UDP-N-acétylglucosamine et du pyrophosphate inorganique (réaction n° 3). Cette dernière réaction est catalysée par une pyrophosphorylase et est analogue aux réactions qui conduisent à la synthèse de l'UDP-glucose et d'autres composés de ce type.

La réaction n° 4 est la première réaction à partir de laquelle le précurseur est engagé spécifiquement dans la synthèse du peptidoglycane. Un fragment à trois atomes de carbone est transféré à l'UDP-N-acétylglucosamine à partir du 2-phosphoénolpyruvate. Du phosphate inorganique et l'UDP-N-acétylglucosamine-énolpyruvate sont formés. La transférase qui catalyse cette réaction a été purifiée à partir de *Enterobacter cloacae*. Elle est inactivée irréversiblement par la phosphonomycine. On croit que la phosphonomycine est un analogue du phosphoénolpyruvate et qu'elle se lie covalentiellement à la transférase par l'intermédiaire d'un groupe SH. La transférase d'*E. cloacae* a été séparée de l'UDP-N-acétylglucosamine pyruvate réductase qui catalyse la réaction suivante (réaction n° 5) et conduit à la synthèse de l'UDP-acide N-acétylmuramique.

La L-alanine, l'acide D-glutamique, l'acide aminé L-R₃ et finalement un dipeptide D-alanyl-D-alanine préalablement formé sont ajoutés séquentiellement à l'UDP-acide N-acétylmuramique (réactions n° 6 à 9). Chacune de ces réactions est catalysée en présence d'ATP par un enzyme qui lui est spécifique et qui requiert l'intervention d'un cation (Mg²⁺ ou Mn²⁺). La séquence de ces réactions dépend exclusivement de la spécificité des enzymes respectifs pour les divers substrats impliqués. L'enzyme d'*E. coli* responsable de l'addition de l'acide *meso*-diaminopimélique est incapable de catalyser l'addition de la L-lysine à l'UDP-N-acétylmuramyl-L-alanyl-D-glutamate. De même, l'enzyme de *S. aureus* qui catalyse l'addition de la L-lysine est incapable d'incorporer l'acide *meso*-diaminopimélique

à l'UDP-N-acétylmuramyl-L-alanyl-D-glutamate. Le nucléotide final est l'UDP-N-acétylmuramyl-L-alanyl- γ -D-glutamyl-L-R₃-D-alanyl-D-alanine (figure 14). L'acide glutamique est lié en γ au résidu L-R₃. Le peptide n'est pas un térapeptide comme dans le peptidoglycane final de la paroi, mais un pentapeptide se terminant par une séquence D-alanyl-D-alanine. Cette séquence D-alanyl-D-alanine est impliquée dans la dernière réaction de la biosynthèse du peptidoglycane (voir p. 142. La réaction de transpeptidation).

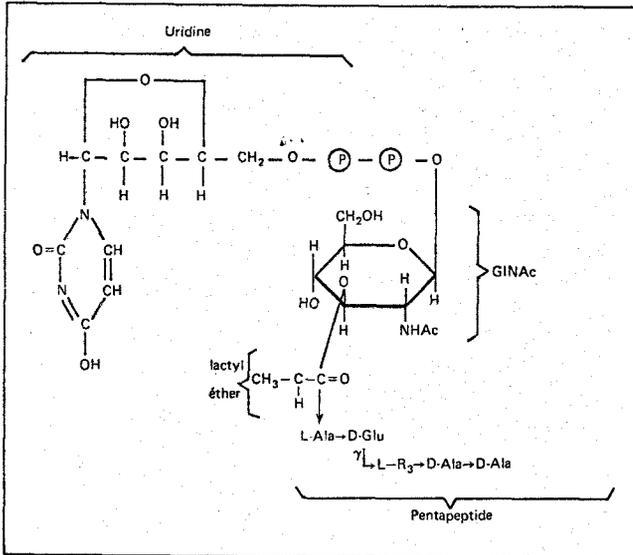


Figure 14 - Le nucléotide précurseur complet UDP-N-acétylmuramyl-pentapeptide.

La "branche" alanine

La synthèse du dipeptide D-alanyl-D-alanine et son addition au nucléotide tripeptide UDP-N-acétylmuramyl-L-alanyl- γ -D-glutamyl-L-R₃ ont suscité beaucoup d'intérêt. Trois enzymes y sont impliqués (réactions n° 10, 11, 9 de la figure 13) :

- l'alanine racémase ;
- la D-alanyl-D-alanine synthétase ou D-Ala : D-Ala ligase (ADP);
- l'UDP-MurNAC-L-Ala- γ -D-Glu-L-R₃ : D-Ala-D-Ala ligase (ADP) ou enzyme d'addition.

La D-cyclosérine est un inhibiteur compétitif de la racémase et de la synthétase ; les valeurs de K_i sont considérablement plus petites que les valeurs de K_m pour les substrats. Par contre, la D-cyclosérine n'inhibe pas l'enzyme d'addition.

Alanine racémase

L'alanine racémase peut fonctionner dans le sens anabolique (2L-Ala \rightarrow 2D-Ala) ou dans le sens catabolique (2D-Ala \rightarrow 2L-Ala). Les racémases de diverses bactéries ont été isolées et étudiées.

La racémase de *S. aureus* est inhibée compétitivement par la D-cyclosérine, que la réaction soit mesurée dans le sens anabolique ou dans le sens catabolique. La L-cyclosérine, même utilisée à de très fortes concentrations, n'est pas un inhibiteur de cette racé-

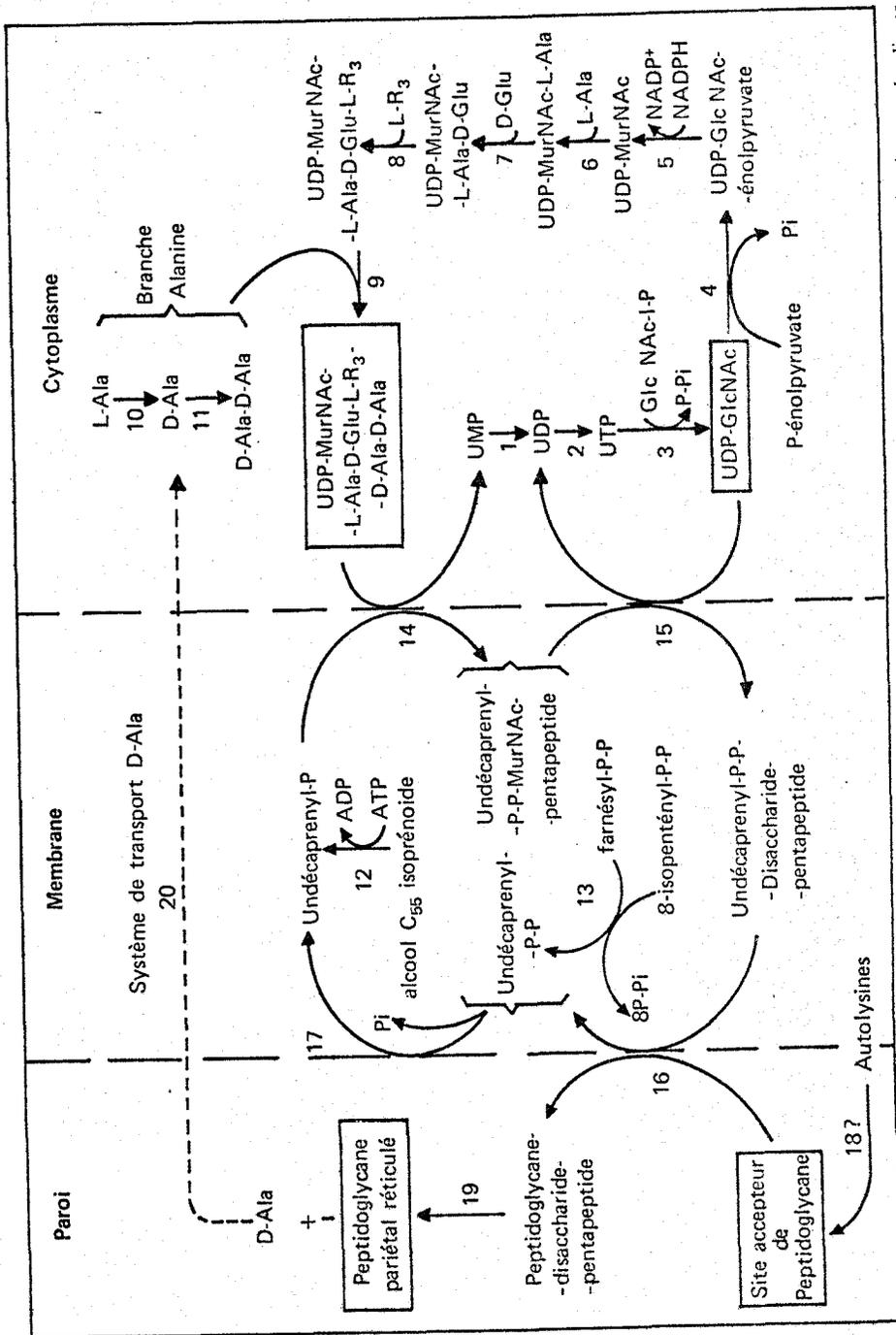


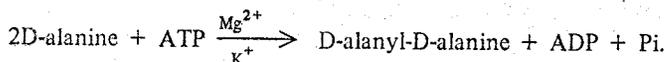
Figure 13 - Biosynthèse d'un peptidoglycane de chémotype I. Les trois étapes (cytoplasmique, membranaire et pariétale) sont séparées par des lignes verticales discontinuées. Toutes les réactions sont montées dans le sens anabolique. GlcNAc = N-acétylglucosamine ; MurNAc = N-acétylmuramique.

mase. Or, si la D-cyclosérine entre en compétition avec la D-alanine, la L-cyclosérine devrait logiquement entrer en compétition avec la L-alanine. Le fait que la L-cyclosérine n'est pas un inhibiteur a été expliqué en postulant l'existence sur la racémase d'un seul site sur lequel la L-alanine et la D-alanine se fixeraient en adoptant la même conformation. Cette conformation spécifiquement reconnue par l'enzyme serait celle que l'on trouve dans la D-cyclosérine.

Contrairement à la racémase de *S. aureus*, la racémase d'*E. coli* est compétitivement inhibée par la D-cyclosérine et par la L-cyclosérine. Un modèle unique permettant d'expliquer le fonctionnement de l'alanine racémase ne peut donc être proposé. Il est possible que certaines racémases aient un site unique pour la D- et la L-alanine et que d'autres aient un site de liaison différent pour chaque isomère.

La synthétase D-alanyl-D-alanine

La synthétase D-alanyl-D-alanine catalyse la réaction



La D-cyclosérine inhibe également cette réaction. Il a été proposé que, dans le cas de *S. faecalis*, l'action primaire de la D-cyclosérine s'effectuerait au site donneur de la synthétase tandis que le site accepteur de l'enzyme serait un site secondaire pour l'action de l'antibiotique. Le dipeptide D-alanyl-D-alanine et certains analogues sont également des inhibiteurs de la synthétase. Cette inhibition est spécifique pour des dipeptides.

L'enzyme d'addition

Cet enzyme catalyse l'addition du dipeptide D-alanyl-D-alanine à l'UDP-N-acétylmuramyl-L-alanyl- γ -D-glutamyl-L-R₃ en présence d'ions Mg²⁺ et d'ATP. Le profil de cet enzyme (chez *S. faecalis*) est complémentaire du profil de la synthétase D-alanyl-D-alanine. Cette combinaison de spécificités garantit la synthèse d'un nucléotide peptidique présentant une séquence normale.

Le transporteur membranaire undécaprényl phosphate

Le transporteur lipidique de la membrane est une des substances-clés de la synthèse du peptidoglycane. Son rôle est de transporter les précurseurs N-acétylglucosamine et N-acétylmuramyl pentapeptide au travers de la membrane jusqu'au site exocellulaire où la polymérisation a lieu. Le transporteur lipidique de *S. aureus* a été isolé à l'état pur et sa structure a été établie par spectrométrie de masse. C'est un polyisoprénoïde alcool à 55 atomes de carbone, c'est-à-dire un polymère contenant 11 unités isoprènes et se terminant par une fonction alcool (figure 15). Chez *S. aureus*, le même transporteur lipidique est utilisé dans la synthèse du peptidoglycane et dans la synthèse des acides téichoïques de la paroi. Ce même transporteur fonctionne également dans la biosynthèse des antigènes O de *Salmonella*. Chez une même bactérie, le même lipide peut donc être impliqué dans la synthèse de plusieurs polymères pariétaux. On a pu montrer par des tests *in vitro* qu'il y a compétition pour une quantité limitée de transporteur lipidique lorsque les précurseurs et les enzymes de deux suites biosynthétiques sont présents simultanément. Le transporteur lipidique qui participe à la synthèse du polysaccharide de la capsule chez *Aerobacter* peut également fonctionner dans la synthèse du mannane chez *M. lysodeikticus*. Enfin, un grand nombre de polyisoprénoïdes alcools ont été isolés à partir des plantes et des animaux. Tous ces lipides sont probablement impliqués dans des réactions de transport et d'orientation au travers de la membrane cytoplasmique.

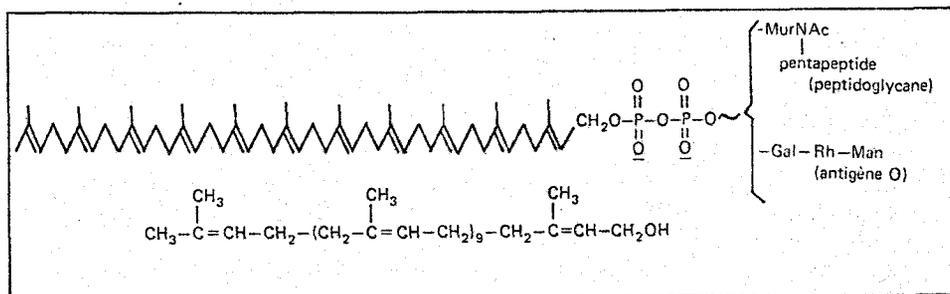


Figure 15 — Le transporteur lipidique alcool C_{55} polyisoprénoïde chargé des précurseurs du peptidoglycane ou des antigènes O, via un pont pyrophosphate.

Pour être fonctionnel dans la synthèse du peptidoglycane, le polyisoprénoïde alcool doit être phosphorylé. Chez *S. aureus*, cette phosphorylation est catalysée en présence d'ATP par une phosphokinase membranaire (réaction n° 12). Cet enzyme est une lipoprotéine. Elle est insoluble dans l'eau mais est soluble et stable dans divers solvants organiques. L'enzyme actif est composé d'une fraction protéique et d'une fraction phospholipidique (phosphatidylglycérol). La fraction protéique est inactive et insoluble dans l'eau et dans les solvants organiques. L'addition de la fraction phospholipidique lui rend son activité et sa solubilité dans les solvants organiques. Ces propriétés indiquent que cette lipoprotéine est probablement un constituant de la phase lipidique de la membrane. L'intervention d'une phosphokinase ATP-dépendante est peut-être unique à *S. aureus*. Chez *Salmonella newington*, un enzyme particulière catalyse la synthèse d'un C_{55} polyisoprénoïde alcool pyrophosphate à partir du farnésyl et de l'isopentényl qui à son tour dérive probablement du mévalonate (réaction n° 13). Le lipide C_{55} pyrophosphate est alors déphosphorylé (réaction n° 17).

Le cycle lipidique

Le cycle lipidique assure l'assemblage des précurseurs cytoplasmiques activés en unités β -1,4-N-acétylglucosaminyl-N-acétylmuramyl-pentapeptide et le transport de ces unités disaccharide-peptide jusqu'aux sites exocellulaires de polymérisation. Il est clair que ce mécanisme est responsable de l'alternance entre les résidus de N-acétylglucosamine et d'acide N-acétylmuramique que l'on trouve dans les chaînes de glycane de la paroi. Ces réactions sont des "translocations" et les enzymes qui les catalysent sont appelés translocases. Le N-acétylmuramyl-pentapeptide est d'abord "transloqué" de l'UDP-N-acétylmuramyl-pentapeptide au transporteur membranaire undécaprényl-phosphate avec formation d'UMP et d'undécaprényl-P.P-N-acétylmuramyl-pentapeptide (réaction n° 14). La N-acétylglucosamine est ensuite transloquée de l'UDP-N-acétylglucosamine à l'undécaprényl-P.P-N-acétylmuramyl-pentapeptide avec formation d'UDP et d'undécaprényl-P.P-disaccharide-pentapeptide (réaction n° 15). Les unités disaccharide-pentapeptide sont enfin transloquées du transporteur membranaire jusqu'au site d'incorporation dans le peptidoglycane pariétal (réaction n° 16). Le mécanisme de cette dernière translocation n'est pas établi et les réactions par lesquelles des sites récepteurs sont créés au sein du peptidoglycane pariétal en voie d'expansion (réaction n° 18) sont encore hypothétiques (voir plus loin). Quel que soit le mécanisme impliqué, cette dernière translocation produit de l'undécaprényl-pyrophosphate qui par déphosphorylation redonne naissance au transporteur initial polyisoprénoïde alcool phosphate (réaction n° 17). Celui-ci peut alors recommencer

un nouveau cycle. La bacitracine est un inhibiteur de la phosphatase qui catalyse la déphosphorylation de l'undécaprényl-pyrophosphate.

Incorporation des chaînes interpeptidiques

Chez tous les peptidoglycanes, autres que ceux du chémotype I, les ponts interpeptidiques contiennent un ou plusieurs résidus additionnels d'acides aminés. L'incorporation de ces acides aminés sur les unités pentapeptides a lieu avant le transfert des unités disaccharide-peptide du transporteur lipidique à la paroi externe. Dans le cas des peptidoglycanes de chémotype II, le procédé par lequel ces acides aminés sont incorporés consiste essentiellement dans une extension de la longueur de la chaîne latérale du résidu L-R₃. Cette extension est réalisée par la substitution du groupement aminé terminal de ce résidu L-R₃ par un ou plusieurs résidus d'acides aminés. Ces acides aminés sont souvent, mais pas toujours, activés sous la forme de dérivés aminoacyl-tRNA et sont ensuite transférés aux unités peptidiques sur le lipide intermédiaire. La plupart de ces réactions sont catalysées par des enzymes particulières. La synthèse de la séquence N^e-pentaglycyl-L-lysine, chez *S. aureus* par exemple, a été étudiée en détail. Cinq résidus de glycine activés sous forme de glycyl-tRNA, sont ajoutés séquentiellement au groupement ε-aminé du résidu L-lysine de l'intermédiaire undécaprényl-P.P-disaccharide-peptide. Quatre espèces de tRNA^{Gly} existent chez *S. aureus*. Tous permettent l'incorporation de la glycine dans les unités de peptidoglycane. Trois d'entre eux participent à la synthèse des protéines. Un de ces tRNA^{Gly}, cependant, ne s'associe pas au ribosome quel que soit le codon glycine utilisé. Ce tRNA^{Gly} qui est apparemment spécifique pour la synthèse du peptidoglycane, pourrait être le produit d'un gène unique. Il a été purifié mais sa séquence n'a pas encore été publiée.

L'incorporation de la L-alanine au groupement ε-aminé de la L-lysine chez *Lactobacillus viridescens* est inhabituelle. Dans ce cas, la L-alanine est transférée du L-alanyl-tRNA au précurseur cytoplasmique UDP-N-acétylmuramyl-pentapeptide et non à l'intermédiaire lipidique membranaire. De plus, ce transfert est catalysé par un enzyme soluble. Dans tous les cas étudiés jusqu'à présent, l'incorporation de résidus de glycine ou d'acides aminés de configuration L dans les chaînes interpeptidiques se fait par l'intervention de divers tRNA. Cependant, ces incorporations diffèrent de la synthèse des protéines sur les ribosomes. Des aminoacyl-tRNA transférases solubles, catalysant également l'addition de certains acides aminés aux groupements N-terminaux de protéines en l'absence de ribosomes, ont été mises en évidence chez diverses bactéries et dans divers tissus animaux. Enfin, il faut aussi noter qu'un tRNA est requis pour la synthèse d'aminoacyl-phosphatidylglycérol par certains enzymes bactériens.

Chez beaucoup de *Lactobacillus* autres que *L. viridescens*, le pont interpeptidique du peptidoglycane est réalisé par un seul résidu d'isoasparagine qui a la configuration D. La synthèse du N^e-(D-isoasparaginy)-L-lysine chez *S. faecalis* et *L. casei* a été étudiée. Cette synthèse se réalise en l'absence de tRNA. L'acide D-aspartique serait activé sous la forme de β-D-aspartyl phosphate par un enzyme membranaire. L'acide D-aspartique serait alors transféré au groupement ε-aminé de la L-lysine au niveau du lipide intermédiaire et, enfin, son groupement α-carboxyle serait amidé (en présence de NH₃ et d'ATP).

La réaction de transpeptidation

L'insertion des unités disaccharide-peptides, nouvellement synthétisées dans le peptidoglycane pariétal en voie de croissance, doit être suivie de la fermeture des ponts interpeptidiques de façon à produire un réseau insoluble et rigide. Cette fermeture des ponts

interpeptidiques a lieu à l'extérieur de la cellule, en l'absence d'ATP. Elle est réalisée par une réaction de transpeptidation dont le mécanisme est représenté dans la figure 16.

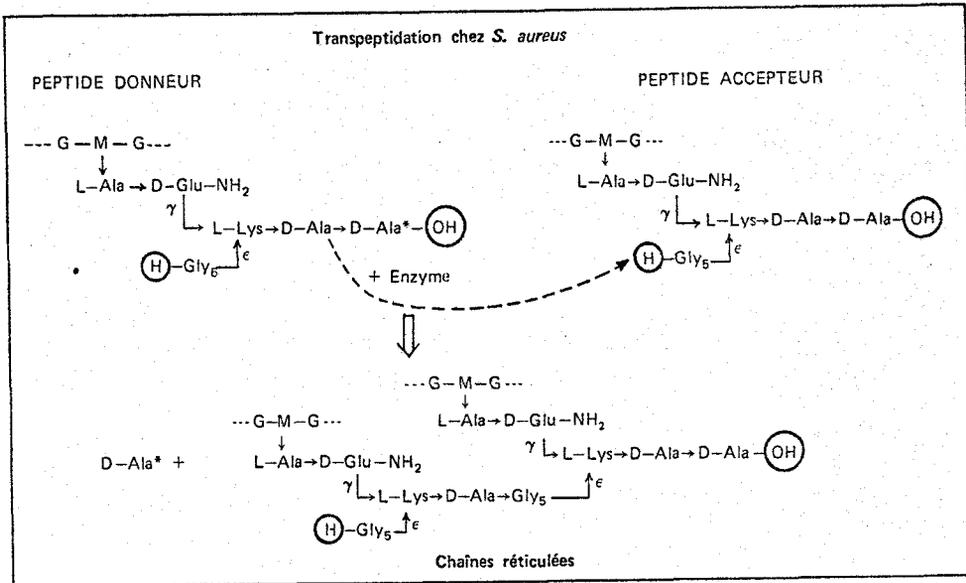


Figure 16 - Réaction de transpeptidation chez *Staphylococcus aureus* Copenhagen. Le peptidoglycane final de *S. aureus* est montré dans la figure 2.

Le groupement C-terminal de l'avant-dernier résidu D-alanine d'un peptide donneur est transféré au groupement N-terminal du résidu L-R₃ d'un peptide accepteur. Des liaisons interpeptidiques sont formées et des quantités équivalentes de résidus D-alanine sont libérées des peptides donneurs. Cette réaction au cours de laquelle l'énergie contenue dans la liaison D-alanyl-D-alanine du peptide donneur est utilisée pour la synthèse de la liaison interpeptidique, est catalysée par une transpeptidase membranaire dont l'activité est spécifiquement inhibée par les pénicillines et les céphalosporines. Le mécanisme d'action de ces antibiotiques n'est pas encore exactement connu.

8/ Génétique

Des mutants d'*Escherichia coli* K12, osmotiquement fragiles et thermosensibles, ont été isolés et étudiés. Ils présentent des lésions aux niveaux de la réductase de l'UDP-N-acétylglucosamine énoylpyruvate (symbole génétique proposé : MurB), de l'enzyme d'addition de la L-alanine (MurC), de l'enzyme d'addition de l'acide *meso*-diaminopimélique (MurE) et de l'enzyme d'addition de la D-alanyl-D-alanine (MurF). Des mutants présentant des lésions au niveau de la transférase UDP-N-acétylglucosamine-2-phosphoénoylpyruvate (symbole génétique proposé : MurA) et au niveau de l'enzyme d'addition de l'acide D-glutamique (MurD) n'ont pas encore été obtenus. Les gènes *MurC*, *E* et *F* ont été localisés entre *Leu* et *azi* (1-1,5 min.) et ils pourraient faire partie d'un opéron. Au contraire, le gène *MurB* a été localisé à 77 min. Des mutants endommagés au niveau de la L-alanine racémase (*alr*, à 3 min.) et au niveau de la D-alanyl-D-alanine ligase (*ddl*, à 17 min.) ont également été isolés.

De nombreux mutants probablement altérés au niveau de l'un ou l'autre des enzymes membranaires ont été obtenus. Cependant, la nature biochimique exacte des lésions et les loci génétiques n'ont pas encore été déterminés. Il a été suggéré que, chez *Escherichia coli*, l'UDP-N-acétylmuramyl-pentapeptide contrôle sa propre biosynthèse par un procédé de rétro-inhibition (*feed-back*).

9/ Biosynthèse des polymères pariétaux autres que le peptidoglycane

Les mécanismes sont similaires à ceux qui assurent la biosynthèse du peptidoglycane et impliquent la participation du même transporteur lipidique. Une revue détaillée de la biosynthèse des antigènes O chez les bactéries gram-négatives et des acides téichoïques chez les bactéries gram-positives peut être trouvée dans :

1/ *Biosynthesis of the core region of lipopolysaccharide*, M.J. Osborne and L.I. Rothfield in *Microbial Toxins*, vol. 4, Academic Press, New York and London, 1971 ;

2/ *The role of membrane in the synthesis of macromolecules*, M.J. Osborne in *Structure and Function of Biological Membranes*, Academic Press Inc., New York and London ; 1971 ;

3/ *Structure and biosynthesis of the bacterial cell wall*, M.J. Osborne in *Ann. Rev. of Biochemistry*, 38, 501-537, (1969) ;

4/ *Structure, biosynthesis and function of teichoic acids*, J. Baddiley, in *Accounts of Chemical Research*, 3, 98-105, (1970).

BIOSYNTHESE DE LA PAROI BACTERIENNE AU NIVEAU CELLULAIRE

Les autolysines

Beaucoup de bactéries possèdent des enzymes qui sont capables d'hydrolyser leur propre peptidoglycane pariétal. Quand ces enzymes peuvent agir sur leurs substrats, les cellules bactériennes s'autolysent. La présence d'enzymes autolytiques peut être mise en évidence de plusieurs façons. Le plus souvent, on provoque une inhibition de la biosynthèse du peptidoglycane, soit par l'addition d'antibiotiques tels que la pénicilline ou la D-cyclosérine, soit en privant la bactérie d'un précurseur requis pour la synthèse du peptidoglycane. L'inhibition de la biosynthèse du peptidoglycane ne provoque pas en soi la lyse de la cellule bactérienne. Il faut, en plus, qu'une ou plusieurs hydrolases du peptidoglycane puissent agir. Par exemple, l'inhibition par la pénicilline de la biosynthèse du peptidoglycane chez un mutant de *Diplococcus pneumoniae* déficient en autolysine ne provoque pas la lyse cellulaire. Il s'agit d'un phénomène de tolérance plutôt que d'un phénomène de résistance à cet antibiotique.

Spécificité des autolysines

Les autolysines peuvent être des endo-N-acétylmuramidases, des endo-N-acétylglucosaminidases, des N-acétylmuramyl-L-alanine amidases ou des peptidases. Chez certaines bactéries, le système autolytique semble n'être constitué que d'un seul enzyme. Par exemple, le système autolytique de *S. faecalis* et celui de *Lactobacillus acidophilus* Gasser sont apparemment constitués d'une endo-N-acétylmuramidase unique et celui de *Diplococcus pneumoniae* et de beaucoup de *Bacillaceae* d'une seule amidase. Chez d'autres bactéries, le système autolytique est complexe. Chez *E. coli* et *S. aureus*, il comprend des endo-N-acétylglucosaminidases, des amidases et des peptidases.

Rôles des autolysines

Les autolysines peuvent jouer plusieurs rôles.

Création de nouveaux sites récepteurs au sein du peptidoglycane en voie d'expansion.

En se basant sur les mécanismes biochimiques de la biosynthèse du peptidoglycane, les endo-N-acétylmuramidases et les endopeptidases sont en principe capables de créer des sites récepteurs nouveaux respectivement dans la portion glycane et dans la portion peptidique de la paroi bactérienne.

Remodelage.

Durant le cycle de la division cellulaire, la forme et le rapport surface/volume des bactéries changent continuellement. On peut admettre que l'hydrolyse de quelques liaisons en des sites topologiquement spécifiques du peptidoglycane permet un réarrangement des liaisons covalentes et des liaisons hydrogène du réseau. De même, la formation de la paroi transversale et sa séparation en deux nouveaux pôles impliquent des changements subtils et séquentiellement ordonnés dans le rapport surface/volume. N'importe quel type d'autolysine est susceptible de jouer un rôle important dans ces diverses modifications. Certains mutants de *B. licheniformis* (*lyt*⁻) ont un temps de génération identique à celui de la souche sauvage, mais se multiplient sous la forme de longues chaînes de bacilles non séparés.

Capacité biosynthétique potentielle des autolysines.

Il est possible que les endo-N-acétylmuramidases puissent catalyser, dans certaines conditions, des réactions de transglycosidation. De même, certains enzymes cellulaires peuvent, selon les conditions dans lesquelles ils travaillent, se comporter comme des carboxypeptidases (enzymes hydrolytiques) ou comme des transpeptidases (enzymes biosynthétiques).

Conclusion

Les autolysines peuvent avoir des fonctions multiples. Il n'est par conséquent pas étonnant que des mutants déficients en autolysines soient pléiotropiques. C'est bien ce que l'on observe le plus souvent. Sans analyse génétique détaillée, il est très difficile de savoir si les phénomènes observés proviennent d'une mutation ponctuelle ou non. Le cas de *Diplococcus pneumoniae* est particulièrement intéressant. Chez cet organisme, la choline est un constituant normal de l'acide téichoïque pariétal et est requis pour la croissance. Le remplacement de la choline par l'éthanolamine de l'acide téichoïque a les effets suivants :

- 1/ perte de la capacité d'autolyse,
- 2/ résistance des parois isolées à l'action lytique de l'amidase,
- 3/ perte de la propriété de se transformer,
- 4/ résistance à la lyse par la pénicilline, la phosphonomycine et la D-cyclosérine,
- 5/ association physique des cellules filles en chaînes.

Relation entre l'activité autolytique et la biosynthèse du peptidoglycane *in vivo*

L'activité autolytique n'est pas nécessaire en soi à la biosynthèse du peptidoglycane. Ainsi, l'inhibition de la croissance de *S. faecalis*, via l'inhibition de la synthèse des protéines (par le chloramphénicol), provoque une rapide diminution de la capacité des cellules à s'autolyser, mais la synthèse du peptidoglycane et des autres polymères pariétaux continue au moins pendant un certain temps. Cependant, au lieu d'augmenter la surface de la cellule bactérienne, les polymères pariétaux synthétisés dans ces conditions provoquent l'épaississement de la paroi. Le résultat est une production accrue de paroi et de peptidoglycane par unité de masse, par cellule. Chez *S. faecalis*, il semble donc que l'endo-N-acétylmuramidase autolytique est uniquement impliquée dans la biosynthèse du peptidoglycane dont résulte une augmentation de la surface cellulaire. Des observations similaires ont été faites avec *L. acidophilus*, *B. subtilis* et *B. megaterium*.

Chez *S. faecalis* et chez d'autres bactéries, la biosynthèse de la paroi qui provoque l'augmentation de la surface cellulaire est un phénomène localisé à la région équatoriale cellulaire où a lieu la formation du septum. Comme l'autolyse cellulaire débute par la dégradation de la pointe et des côtés des parois transversales naissantes, on peut en conclure que le système autolytique est localisé là où a lieu la synthèse de la paroi transversale et périphérique. Par opposition, la synthèse du peptidoglycane conduisant à un épaississement de la paroi a lieu en de nombreux sites dispersés sur toute la surface de la cellule et ces sites restent fonctionnels même lorsque la croissance exponentielle est rapide.

Le modèle

La régulation de la biosynthèse du peptidoglycane se pose donc, non seulement en termes de production totale, mais aussi en termes topologique et vectoriel. La question est de savoir où l'assemblage des précurseurs a lieu et dans quelle direction il procède. La "direction" de la synthèse du peptidoglycane est un moyen de contrôle des rapports entre épaississement et augmentation de surface et entre formation de parois périphériques et formation de parois transversales. Cette synthèse "vectorielle" est cruciale pour le contrôle de la forme de la cellule, de la division de la cellule et des changements morphogénétiques qui apparaissent durant tout le cycle cellulaire.

Le modèle proposé pour *S. faecalis* (figure 17) est le suivant. Le peptidoglycane, qui est synthétisé et assemblé près de la paroi transversale naissante, peut être dirigé :

- 1/ vers la production d'une paroi périphérique plus grande,
- 2/ vers la production d'une paroi plus épaisse,
- 3/ vers la production de la paroi transversale.

Les quantités de peptidoglycane dirigées vers l'une ou l'autre de ces directions dépendent de :

- 1/ la vitesse à laquelle les précurseurs sont injectés à la base de la paroi transversale (R_1),
- 2/ la vitesse à laquelle les précurseurs sont injectés dans les nombreux sites situés sur toute la surface de la paroi, ce qui conduit à l'épaississement,
- 3/ la vitesse à laquelle la nouvelle paroi se divise en deux couches (R_2).

C'est à ce niveau (*peeling apart*) que l'autolysine jouerait le rôle le plus important et que son activité serait contrôlée. La dimension des cellules filles et leur forme dépendraient

dès lors de la vitesse relative avec laquelle la paroi se divise en deux couches au site R_2 . Si la vitesse de *peeling* est grande, les cellules filles seront grandes et les parois transversales petites. Si, au contraire, la vitesse de *peeling* est petite, les cellules seront petites mais les parois transversales seront plus longues.

Le modèle qui précède ne s'applique qu'aux bactéries sphériques. Chez les bactéries en forme de bâtonnet, le modèle doit être plus compliqué. En effet, d'autres facteurs doivent intervenir tels que ceux qui contrôlent la synthèse de la partie cylindrique de la paroi.

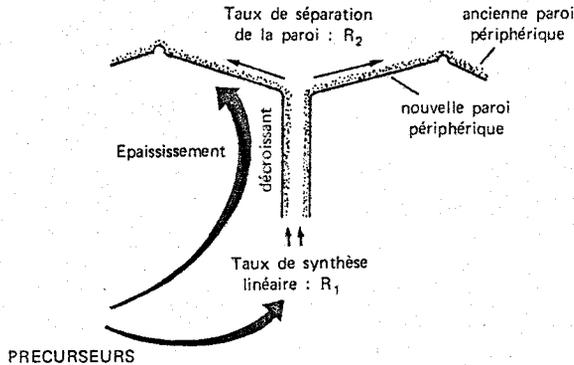


Figure 17 — Modèle de la croissance de la paroi chez *Streptococcus faecalis*. D'après [14].

LIVRES ET REVUES

- [1] M.R.J. Salton. — in *The Bacterial Cell Wall*, Elsevier Publishing Co., Amsterdam, 1964.
- [2] H.J. Rogers and H.R. Perkins, in *Cell Walls and Membranes*, E.F. and N. Spon Ltd, London, 1968.
- [3] J.M. Ghuyssen. — *Bacteriol. Rev.*, 32, 425 (1968).
- [4] A.M. Glauert and M.J. Thornley. — *Ann. Rev. Microbiol.*, 23, 1525 (1969).
- [5] M.J. Osborne. — *Ann. Rev. Biochem.*, 38, 701 (1969).
- [6] W. Weidel and H. Pelzer. — *Adv. Enzymol.*, 26, 193 (1964).
- [7] J.M. Ghuyssen, J.L. Strominger, and D.J. Tipper. — in *Comprehensive Biochemistry* (M. Florkin and E.H. Stotz, eds.), Vol. 26A, American Elsevier Publishing Co., New York, 1968, pp. 53-104.
- [8] D. Ellar. — in *Organization and Control in Prokaryotic and Eukaryotic Cells* (H.P. Charles and B.C.J. Knight, eds.), Cambridge University Press, 1970.
- [9] D.J. Tipper. — *J. of Systematic Bacteriology*, 20, 361 (1970).
- [10] J.L. Strominger. — *The Harvey Lectures*, 64, 179 (1970).
- [11] H.H. Martin. — *Ann. Rev. Biochem.*, 35 (2), 457 (1966).
- [12] H.J. Rogers. — *Bacteriol. Rev.*, 34, 194 (1970).
- [13] J.S. Thompson. — *J. Theoret. Biol.*, 33, 63 (1971).

- [14] M.L. Higgins and G.D. Shockman. — *CRC Critical Rev. in Microbiology*, 1, 29 (1971).
- [15] F.C. Neuhaus, C.V. Carpenter, M.P. Lambert and R.J. Wargel. — *Proc. Symp. on Molecular Mechanisms of Antibiotic Action on Protein Biosynthesis and Membranes* (E. Munoz, F. Ferrandiz and D. Vazquez, eds.), Elsevier Publishing Co., Amsterdam, 1972.
- [16] L. Rothfield and D. Romeo. — *Bacteriol. Rev.*, 35, 14 (1971).
- [17] F.C. Neuhaus. — *Accounts of Chemical Research*, 4, 297 (1971).
- [18] J.M. Ghuysen, M. Leyh-Bouille, M. Nakel, J. Dusart, K. Johnson, J.M. Frère and J. Coyette. — *Proc. Symp. on Mol. Mechanisms of Antibiotic Action on Protein Biosynthesis and Membranes* (E. Munoz, F. Ferrandiz and D. Vazquez, eds.), Elsevier Publishing Co., Amsterdam, (1972).
- [19] E.F. Gale, E. Cundliffe, P.E. Reynolds, M.H. Richmond, M.J. Wariny. — in *The Molecular Basis of Antibiotic Action*, John Wiley and Sons Ltd., 1972.
- [20] J.L. Strominger, P. Blumberg, H. Suginaka, J. Umbreit and G. Wickus. — *Proc. Symp. on Mol. Mechanisms of Antibiotic Action on Protein Biosynthesis and Membranes* (E. Munoz, F. Ferrandiz and D. Vazquez, eds.), Elsevier Publ. Co., Amsterdam, 1972.
- [21] R.M. Cole. — *Bacteriol. Rev.*, 29, 326 (1965).