



This is a repository copy of *MacP, un régulateur de l'assemblage de la paroi cellulaire de la bactérie pathogène Streptococcus pneumoniae*.

White Rose Research Online URL for this paper:
<http://eprints.whiterose.ac.uk/161143/>

Version: Published Version

Article:

Manuse, S., Fenton, A. orcid.org/0000-0003-4042-4580 and Grangeasse, C. (2018) MacP, un régulateur de l'assemblage de la paroi cellulaire de la bactérie pathogène *Streptococcus pneumoniae*. *médecine/sciences*, 34 (8-9). pp. 642-645. ISSN 0767-0974

<https://doi.org/10.1051/medsci/20183408004>

© 2018 médecine/sciences – Inserm. Reproduced in accordance with the publisher's self-archiving policy.

Reuse

Items deposited in White Rose Research Online are protected by copyright, with all rights reserved unless indicated otherwise. They may be downloaded and/or printed for private study, or other acts as permitted by national copyright laws. The publisher or other rights holders may allow further reproduction and re-use of the full text version. This is indicated by the licence information on the White Rose Research Online record for the item.

Takedown

If you consider content in White Rose Research Online to be in breach of UK law, please notify us by emailing eprints@whiterose.ac.uk including the URL of the record and the reason for the withdrawal request.



eprints@whiterose.ac.uk
<https://eprints.whiterose.ac.uk/>

d'institutions scolaires, pourrait être proposée auprès des plus jeunes. Ce modèle d'intervention pourrait être utilisé en complément des consultations cliniques ou de façon continue, avant que les jeunes soient confrontés à cette réalité technologique. Différents outils pourraient être proposés : des séances de formations interactives et éducatives permettant de détecter une dépendance ; une sensibilisation des élèves et de leur famille sur les dangers de la cyberdépendance sur la santé et le bien-être. Une collaboration entre les joueurs, leur entourage familial, leur environnement scolaire et les soignants sera donc nécessaire. Elle permettra, respectivement, d'éduquer (transfert de connaissance et prévention), de détecter (observer et analyser) les éventuelles perturbations de comportement et, enfin, d'évaluer (adapter la thérapie) l'impact réel du jeu à moyen et long termes sur l'ensemble des personnes impliquées. ♦

Video games and mental health

LIENS D'INTÉRÊT

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

RÉFÉRENCES

1. Anderson K, Grossberg GT. Brain games to slow cognitive decline in Alzheimer's disease. *J Am Med Dir Assoc* 2014 ; 15 : 536-7.
2. Bavelier D, Davidson RJ. Brain training: games to do you good. *Nature* 2013 ; 494 : 425-6.
3. Anguera JA, Boccanfuso J, Rintoul JL, et al. Video game training enhances cognitive control in older adults. *Nature* 2013 ; 501 : 97-101.
4. Baniqued PL, Kranz MB, Voss MW, et al. Cognitive training with casual video games: points to consider. *Front Psychol* 2014 ; 4 : 1010.
5. Cardoso-Leite P, Bavelier D. Video game play, attention, and learning: how to shape the development of attention and influence learning? *Curr Opin Neurol* 2014 ; 27 : 185-91.
6. Bonnaire C, Phan O. Représentations des risques associés à l'usage des jeux vidéo chez les jeunes adolescents : une étude exploratoire pour aider à penser la prévention. *Arch Pediatr* 2017 ; 24 : 607-17.
7. Szycik GR, Mohammadi B, Hake M, et al. Excessive users of violent video games do not show emotional desensitization: an fMRI study. *Brain Imaging Behav* 2017 ; 11 : 736-43.
8. Clemenson GD, Stark CE. Virtual environmental enrichment through video games improves hippocampal-associated memory. *J Neurosci* 2015 ; 35 : 16116-25.
9. Kuhn S, Gallinat J. Amount of lifetime video gaming is positively associated with entorhinal, hippocampal

and occipital volume. *Mol Psychiatry* 2014 ; 19 : 842-7.

10. Nouchi R, Taki Y, Takeuchi H, et al. Brain training game boosts executive functions, working memory and processing speed in the young adults: a randomized controlled trial. *PLoS One* 2013 ; 8 : e55518.
11. Vedamurthy I, Nahum M, Bavelier D, Levi DM. Mechanisms of recovery of visual function in adult amblyopia through a tailored action video game. *Sci Rep* 2015 ; 5 : 8482.
12. Gong D, He H, Liu D, et al. Enhanced functional connectivity and increased gray matter volume of insula related to action video game playing. *Sci Rep* 2015 ; 5 : 9763.
13. Synofzik M, Schatton C, Giese M, et al. Videogame-based coordinative training can improve advanced, multisystemic early-onset ataxia. *J Neural* 2013 ; 260 : 2656-8.
14. Latham AJ, Patston LL, Westermann C, et al. Earlier visual N1 latencies in expert video-game players: a temporal basis of enhanced visuospatial performance? *PLoS One* 2013 ; 8 : e75231.
15. Ilg W, Schatton C, Schicks J, et al. Video game-based coordinative training improves ataxia in children with degenerative ataxia. *Neurology* 2012 ; 79 : 2056-60.
16. Kuss DJ, Griffiths MD. Online gaming addiction in children and adolescents: a review of empirical research. *J Behav Addict* 2012 ; 1 : 3-22.
17. Pujol J, Fenoll R, Fornis J, et al. Video gaming in school children: how much is enough? *Ann Neurol* 2016 ; 80 : 424-33.
18. Thomee S, Harenstam A, Hagberg M. Computer use and stress, sleep disturbances, and symptoms of depression among young adults: a prospective cohort study. *BMC Psychiatry* 2012 ; 12 : 176.
19. Bonnechère B, Jansen B, Omelina L, et al. Les jeux vidéo (bientôt) au service des patients ? *Med Sci (Paris)* 2013 ; 29 : 957-60.

NOUVELLE

MacP, un régulateur de l'assemblage de la paroi cellulaire de la bactérie pathogène *Streptococcus pneumoniae*

Sylvie Manuse¹, Andrew Fenton², Christophe Grangeasse¹

¹Unité de microbiologie moléculaire et biochimie structurale, CNRS UMR 5086, université de Lyon, 7, passage du Vercors, F-69007, Lyon, France.

²The Florey institute, university of Sheffield, S10 2TN, Sheffield, Royaume-Uni.
c.grangeasse@ibcp.fr

> Les bactéries sont entourées d'une enveloppe cellulaire indispensable à leur protection, leurs échanges avec l'environnement, leur réponse comportementale, et au maintien de l'intégrité cellulaire. La structure et l'organisation de cette enveloppe varient en fonction du rang taxonomique des bactéries. Une majorité d'entre elles contient, dans son enveloppe, un polymère appelé pepti-

doglycane [1]. Ce polymère peut être épais chez les bactéries à Gram-positif ou beaucoup plus fin, et protégé par une seconde membrane externe, chez les bactéries à Gram-négatif (Figure 1). En fonction des différents phylums bactériens, la composition de l'enveloppe cellulaire comprend également une couche polysaccharidique extérieure, des protéines et des acides teichoïques et lipo-

teichoïques (bactéries à Gram positif) ou des lipopolysaccharides (bactéries à Gram négatif) [2].

Les propriétés biophysiques du peptidoglycane sont responsables de la forme cellulaire et assurent une protection mécanique nécessaire à l'intégrité de la cellule. Ce polymère est constitué de chaînes glucidiques, formées par la répétition de N-acétyl glucosamine et

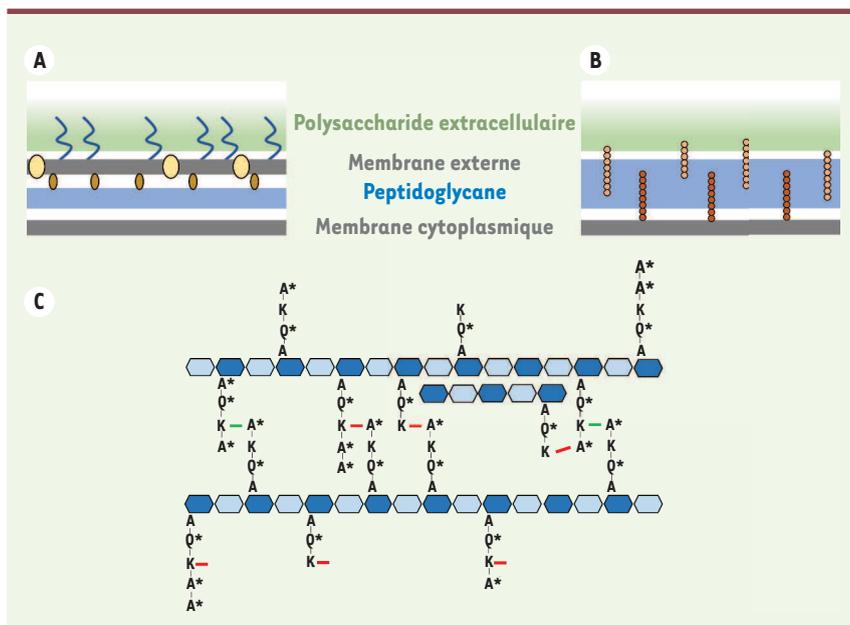


Figure 1. Structure et organisation de l'enveloppe cellulaire bactérienne. **A. Bactéries à Gram négatif.** Les ovales de couleur paille et marron symbolisent respectivement les protéines enchâssées dans la membrane externe, comme les porines, et la lipoprotéine de Braun, située à l'interface entre la face intérieure de la membrane externe et la couche de peptidoglycane. Les lipopolysaccharides ancrés dans la membrane externe sont représentés par des traits ondulés bleus. **B. Bactéries à Gram positif.** Les chaînes de perles de couleur saumon et brique symbolisent respectivement les acides téichoïques couplés à la couche de peptidoglycane et les acides lipotéichoïques ancrés dans la membrane plasmique. **C. Composition et organisation de la couche de peptidoglycane.** Les répétitions de N-acétyl glucosamine (hexagones bleu clair) et d'acide N-acétyl muramique (hexagones bleu foncé) composent les chaînes glucidiques. Ces dernières sont réticulées par des ponts peptidiques entre les peptides ancrés sur l'acide N-acétyl muramique de deux chaînes glucidiques différentes. La séquence des peptides est variable suivant les espèces bactériennes. La composition indiquée est celle retrouvée chez *Streptococcus pneumoniae*. A pour alanine, Q pour glutamine, K pour lysine. Les astérisques indiquent les acides aminés de configuration D. Les traits rouges symbolisent la réticulation directe entre la lysine en position 3 d'un peptide et l'alanine D en position 4 d'un autre peptide. Les traits verts symbolisent la réticulation indirecte via l'intermédiaire de ponts sérine/alanine ou alanine-alanine retrouvés chez le pneumocoque.

clair) et d'acide N-acétyl muramique (hexagones bleu foncé) composent les chaînes glucidiques. Ces dernières sont réticulées par des ponts peptidiques entre les peptides ancrés sur l'acide N-acétyl muramique de deux chaînes glucidiques différentes. La séquence des peptides est variable suivant les espèces bactériennes. La composition indiquée est celle retrouvée chez *Streptococcus pneumoniae*. A pour alanine, Q pour glutamine, K pour lysine. Les astérisques indiquent les acides aminés de configuration D. Les traits rouges symbolisent la réticulation directe entre la lysine en position 3 d'un peptide et l'alanine D en position 4 d'un autre peptide. Les traits verts symbolisent la réticulation indirecte via l'intermédiaire de ponts sérine/alanine ou alanine-alanine retrouvés chez le pneumocoque.

d'acide N-acétyl muramique, sur lesquelles se lient des chaînes peptidiques courtes composées d'acides aminés de configurations D et L [1]. Ces dernières forment des ponts peptidiques directs ou indirects, responsables de la réticulation des chaînes glucidiques (Figure 1). Ce maillage tridimensionnel constitue ainsi un réseau macromoléculaire souvent comparé à un véritable exosquelette qui entoure complètement la cellule bactérienne. Tout défaut dans l'assemblage de cette paroi est dommageable, voire fatal pour la cellule bactérienne. Ainsi, de nombreux antibiotiques actuels ciblent spécifiquement les enzymes impliquées dans la polymérisation et la réticulation du peptidoglycane.

L'assemblage du peptidoglycane nécessite des étapes de synthèse cytoplasmique assurant la formation d'un pré-curseur, appelé lipide II (Figure 2), qui est transloqué à l'extérieur de la cellule où il est intégré au polymère de pep-

tidoglycane préexistant. Cette étape nécessite notamment l'action d'enzymes possédant des activités transglycosidases et/ou transpeptidases qui, respectivement, allongent et réticulent les chaînes glucidiques par des ponts peptidiques. Les enzymes responsables de ces étapes appartiennent à deux familles de protéines : les SEDS (*shape, elongation, division and sporulation protein*) et les PBP (*penicillin-binding protein*) (Figure 2) [3]. Les PBP représentent les plus anciennes cibles thérapeutiques majeures pour combattre les bactéries pathogènes. Elles sont, en effet, inhibées par des antibiotiques de type β -lactame, comme les pénicillines, les céphalosporines ou encore les carbapénèmes. La capacité de résistance des bactéries à ces antibiotiques est aujourd'hui souvent associée à des mutations des PBP [4]. Pour faire face aux infections dues aux bactéries résistantes, il est donc nécessaire d'imaginer de nouvelles stratégies d'inhibition des

PBP permettant la déstabilisation et l'altération de l'assemblage du peptidoglycane.

Une perspective intéressante a émergé récemment à la suite de la découverte, chez les bactéries à Gram-négatif, des premiers activateurs de PBP, comme les lipo-protéines LpoA et LpoB, qui activent respectivement PBP1a et PBP1b d'*Escherichia coli* [5]. En ciblant ces activateurs par des molécules spécifiques, la fonction de la PBP associée pourrait ainsi être affectée, ce qui permettrait de lutter contre les bactéries résistantes aux antibiotiques actuels de type β -lactame. Les activateurs identifiés, comme LpoA et LpoB, semblent être conservés chez d'autres bactéries à Gram-négatif, mais ils ne sont pas retrouvés chez les bactéries à Gram-positif. Lors d'une étude récente réalisée en collaboration avec les équipes de D. Rudner et T. Bernhardt de l'université d'Harvard aux États-Unis, nous avons identifié une protéine membranaire, que

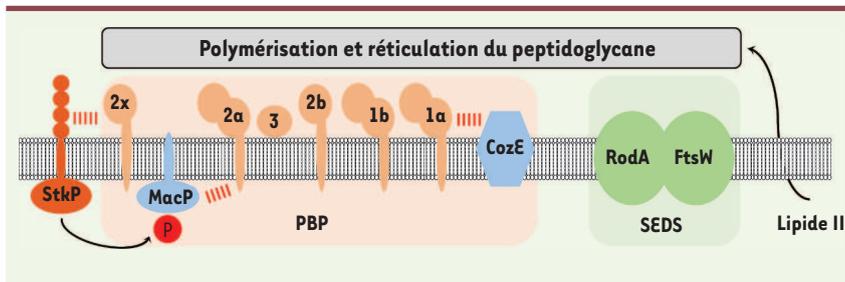


Figure 2. Assemblage et réticulation du peptidoglycane chez le pneumocoque. Le lipide II est synthétisé à la surface interne de la membrane plasmique. Après transport à travers la membrane, ce précurseur est pris en charges par les SEDS (*shape, elongation, division and sporulation proteins* en vert pâle) et les PBP (*penicillin-binding protein*, couleur saumon pâle) qui polymérisent et réticulent le polymère de peptidoglycane. Le pneumocoque possède deux SEDS (FtsW et RodA, ronds verts) et six PBP (transpeptidases 2x et 2b, transpeptidases/glycosyltransférases 1a, 1b et 2a, carboxypeptidase 3, ronds couleur saumon) nécessaires à cet assemblage. CozE, le régulateur négatif de PBP1a, et MacP (*membrane-anchored cofactor of PBP2a*), l'activateur de PBP2a, sont indiqués en bleu. Les traits rouges symbolisent les interactions entre les PBP et leur régulateur respectif. La sérine/thréonine kinase StkP (marron) régule la fonction de MacP par phosphorylation et influence la fonction de PBP2x.

nous avons nommée MacP (*membrane-anchored cofactor of PBP2a*), capable d'activer spécifiquement PBP2a, l'une des six PBP produites par la bactérie pathogène à Gram-positif *Streptococcus pneumoniae* (Figure 2) [6]. Cette bactérie, également appelée pneumocoque, est toujours considérée comme un pathogène de première importance, même en présence de traitements et de vaccins efficaces [7] (→). En 2017, l'Organisation mondiale de la santé a inclus cette bactérie dans la liste des 12 pathogènes bactériens les plus problématiques¹. L'augmentation de la prépondérance des souches de pneumocoques résistantes à différents antibiotiques est également très inquiétante [8]. La caractérisation d'un activateur de l'activité d'une PBP, exprimée par le pneumocoque et d'autres bactéries à Gram-positif, pourrait permettre de concevoir de nouvelles molécules actives contre les bactéries résistantes aux antibiotiques.

(→) Voir la Synthèse de P. Léophonte et R. Garraffo, *m/s hors série n° 3*, août-septembre 2008, page 7

Streptococcus pneumoniae produit trois PBP (PBP1a, PBP1b et PBP2a) possédant simultanément des activités transpeptidase et transglycosidase, qui ne sont pas essentielles pour sa croissance. La délétion conjointe des gènes *pbp1a* et *pbp2a* est cependant létale pour la bactérie, indiquant que ces activités pourraient être fonctionnellement redondantes. Dans cette étude, la réalisation d'un crible génétique synthétique létal a permis de montrer que le gène *macP* est essentiel uniquement dans une souche dépourvue de *pbp1a* alors qu'il est facultatif dans une souche sauvage ou déficiente pour *pbp2a* [6]. De plus, la délétion de *macP* mime les effets de la délétion de *pbp2a*. En effet, en absence de *macP* ou de *pbp2a*, les cellules sont de plus petite taille et se lysent facilement. La spécificité de MacP envers PBP2a a été confirmée en mettant en évidence que la viabilité du mutant déficient pour *macP* n'est pas affectée par le niveau d'expression de *pbp2a*, mais est strictement dépendante de celui de *pbp1a*. L'utilisation d'une sonde fluorescente marquant spécifiquement les sites d'assemblage et de réticulation du peptidoglycane a également permis d'observer que la biogénèse

de ce polymère est fortement impactée dans une souche sous-exprimant *pbp1a* et dépourvue de *macP*. L'analyse du réseau d'interaction de MacP a également démontré que MacP interagit directement et spécifiquement avec PBP2a. En effet, MacP n'est pas capable d'interagir avec d'autres facteurs membranaires, comme les protéines MreC, MreD et CozE², nécessaires à la synthèse du peptidoglycane du pneumocoque. L'ensemble de ces observations indique donc que MacP est un activateur nécessaire et spécifique de la fonction de PBP2a (Figure 2).

La localisation cellulaire de MacP a ensuite été analysée pour en préciser sa fonction. Chez le pneumocoque, la synthèse de peptidoglycane est exclusivement localisée au centre de la cellule au niveau du septum de division. De manière cohérente, MacP et PBP2a présentent des localisations similaires, mais qui ne sont cependant pas affectées par leur délétion respective. Le recrutement de ces deux protéines au centre de la cellule fait donc appel à un mécanisme indépendant et encore inconnu. MacP promeut ainsi la fonction de PBP2a uniquement lorsque les deux protéines sont recrutées au septum de division. Il est intéressant de noter que MacP est phosphorylé par la sérine/thréonine-kinase-P (StkP) (Figure 2). Cette kinase est considérée comme le chef d'orchestre de la division cellulaire du pneumocoque en phosphorylant et en influençant la fonction de différentes protéines de la division cellulaire comme MapZ, DivIVA et EloR³ [9-11]. Le site unique de phosphorylation de MacP a été identifié et un mutant mimant un état permanent de déphosphorylation (mutation phospho-ablative) a été généré. Cette mutation bloque la croissance et entraîne la létalité d'une

² MreC et MreD font partie du complexe assurant l'élongation du pneumocoque. CozE est une protéine membranaire qui forme un complexe avec MreC et MreD.

³ MapZ se comporte comme une véritable balise moléculaire qui indique le centre de la cellule à la machinerie de division. DivIVA régule la division cellulaire et EloR son élongation.

¹ <http://www.who.int/en/news-room/detail/27-02-2017-who-publishes-list-of-bacteria-for-which-new-antibiotics-are-urgently-needed>



souche déficiente pour *pbp1a*. Néanmoins, MacP non-phosphorylable est toujours capable d'interagir avec PBP2a, indiquant que la phosphorylation de MacP n'est pas nécessaire à la formation du complexe PBP2a/MacP. Toutefois, cette phosphorylation pourrait influencer la fonction de PBP2a au sein du complexe d'assemblage et de réticulation du peptidoglycane.

Dans le futur, il faudra comprendre non seulement le mécanisme moléculaire d'activation de la fonction de PBP2a par MacP, mais également comment ce mécanisme est régulé par phosphorylation et coordonné à la fonction des autres protéines de division, elles-mêmes substrats de StkP. Il a été montré que cette kinase influence également, par interaction directe, la fonction de PBP2x, une PBP essentielle du pneumocoque [8]. Il a récemment été démontré que la protéine régulatrice CozE agit négativement sur PBP1a, dont la suractivité s'avère létale [12]. Dans ce contexte, on ne peut pas exclure que la fonction des trois autres PBP (PBP1b, PBP2b et PBP3) du pneumocoque puisse également dépendre

de protéines régulatrices. Répondre à l'ensemble de ces questions permettra de comprendre les rouages de la division cellulaire et de la morphogenèse du pneumocoque et d'autres bactéries à Gram-positif. Cette connaissance fondamentale devrait ouvrir la voie à des travaux de recherche plus appliqués pour développer de nouvelles molécules altérant l'assemblage du peptidoglycane. ♦

MacP, a regulator of the cell wall assembly in the human bacterial pathogen *Streptococcus pneumoniae*

REMERCIEMENTS

Nous remercions le CNRS, l'université de Lyon, la Fondation pour la recherche médicale ainsi que la Fondation Bettencourt Schueller pour le financement de nos travaux de recherche.

LIENS D'INTÉRÊT

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

RÉFÉRENCES

- Egan AJ, Cleverley RM, Peters K, et al. Regulation of bacterial cell wall growth. *Febs J* 2017 ; 284 : 851-67.
- Silhavy TJ, Kahne D, Walker S. The bacterial cell envelope. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 2010 ; 2 : a000414.
- Cho H, Wivagg CN, Kapoor M, et al. Bacterial cell wall biogenesis is mediated by SEDS and PBP polymerase families functioning semi-autonomously. *Nat Microbiol* 2016 : 16172.
- Lobanovska M, Pilla G. Penicillin's discovery and antibiotic resistance: lessons for the future? *Yale J Biol Med* 2017 ; 90 : 135-45.
- Paradis-Bleau C, Markovski M, Uehara T, et al. Lipoprotein cofactors located in the outer membrane activate bacterial cell wall polymerases. *Cell* 2010 ; 143 : 1110-20.
- Fenton AK, Manuse S, Flores-Kim J, et al. Phosphorylation-dependent activation of the cell wall synthase PBP2a in *Streptococcus pneumoniae* by MacP. *Proc Natl Acad Sci USA* 2018 ; 115 : 2812-7.
- Léophonte P, Garraffo R. Impact écologique des antibiotiques : l'exemple de la pneumonie à pneumocoque. *Med Sci (Paris)* 2008 ; 24 (suppl 3) : 7-12.
- Linares J, Ardanuy C, Pallares R, Fenoll A. Changes in antimicrobial resistance, serotypes and genotypes in *Streptococcus pneumoniae* over a 30-year period. *Clin Microbiol Infect* 2010 ; 16 : 402-10.
- Grangeasse C. Rewiring the pneumococcal cell cycle with serine/threonine- and tyrosine-kinases. *Trends Microbiol* 2016 ; 24 : 713-24.
- Stamsas GA, Straume D, Ruud Winther A, et al. Identification of EloR (Spr1851) as a regulator of cell elongation in *Streptococcus pneumoniae*. *Mol Microbiol* 2017 ; 105 : 954-67.
- Zucchini L, Mercy C, Garcia PS, et al. PASTA repeats of the protein kinase StkP interconnect cell constriction and separation of *Streptococcus pneumoniae*. *Nat Microbiol* 2018 ; 3 : 197-209.
- Fenton AK, Mortaji LE, Lau DT, et al. CozE is a member of the MreCD complex that directs cell elongation in *Streptococcus pneumoniae*. *Nat Microbiol* 2016 ; 2 : 16237.

NOUVELLE

La SAGA TOR au secours des levures carencées en nutriments

Thomas Laboucaré, Dominique Helmlinger

CRBM, CNRS UMR5237, université de Montpellier, 1919 route de Mende, 34293 Montpellier, France.
dhelmlinger@crbm.cnrs.fr

► Comment une cellule répond-elle et s'adapte-t-elle aux fluctuations de son environnement, par exemple, à la disponibilité en nutriments, est une question d'importance fondamentale. Plusieurs voies de signalisation, dont celles impliquant la kinase mTOR (*mammalian target of rapamycin*), TORC1 (*mTOR complex 1*) et TORC2, renseignent les cellules

sur la quantité et la qualité des sucres, des acides aminés et des composés azotés disponibles. Ces voies contrôlent le taux de croissance et l'induction de programmes développementaux *via* différents effecteurs, qui modulent les profils transcriptionnels, traductionnels, post-traductionnels et métaboliques des cellules [1, 2].

La régulation de l'expression des gènes joue un rôle fondamental dans ce processus et peut s'effectuer à plusieurs étapes [3]. Une étape critique est l'initiation de la transcription, qui requiert le recrutement séquentiel de nombreux facteurs, dont des complexes co-activateurs. Des études ont caractérisé leur composition et leurs activités, cepen-