

Résumé

Les bactéries sont susceptibles de coloniser des surfaces variées et former de véritables communautés dynamiques complexes. Nous nous intéressons au "**swarming**" ou *migration en masse rapide des bactéries sur une surface*, phénomène à l'origine de la formation des **biofilms**. *Bacillus subtilis*, migre avec une architecture extraordinaire caractérisée par des vagues successives de migration des cellules, avec la formation de ramifications ou "**dendrites**". La sécrétion de surfactine et le mouvement des flagelles sont essentiels pour cette **migration**. La monocouche des dendrites primaires (jusqu'à 1.5 cm de longueur) permet une analyse quantitative spatio-temporelle de l'expression génique *in situ* en cellule unique. Au cours de ces études, nous avons montré que l'acide glutamique joue un rôle dans le chimiotactisme pour la migration dendritique de *B. subtilis*. Au sein de la dendrite nous connaissons deux populations distinctes de cellules. Les cellules « swarmers », localisées dans le dernier millimètre à la pointe de la dendrite, sont hyper-flagellées et extrêmement mobiles. Derrière elles on trouve les « supporteurs » peu mobiles et qui constituent le gros de la biomasse de la dendrite. Ces différentes sous-populations pourraient présenter des taux de croissance différents. Nous nous sommes alors intéressés la question fondamentale de savoir qui se divise dans la communauté. En effet, la migration d'une dendrite en monocouche cellulaire est un phénomène bi-dimensionnel qui ne peut être expliqué simplement par une croissance exponentielle de tous les membres de la communauté. Nous avons pu montrer qu'il existe de réelles différences de l'expression génétique entre les cellules "swarmers", localisées à la pointe de la dendrite, et les autres cellules composant la dendrite. Afin de comprendre comment la division des cellules pourrait dépendre de la localisation d'une cellule individuelle au sein de la dendrite, nous avons étudié l'expression de certains gènes clés indicatifs de la réplication de l'ADN et de la traduction. Nous avons pu montrer que les swarmers expriment fortement au moins une protéine ribosomale (L33), l'ARN ribosomal (*rrnB*) et deux gènes impliqués dans la réplication de l'ADN, l'initiateur de la réplication *dnaA* et le « β 2 sliding clamp » de l'ADN polymérase *dnaN*. Cette augmentation indique clairement que les swarmers sont métaboliquement plus actifs que les autres bactéries constituant la dendrite.

Nous avons corroboré ces résultats en adaptant à notre système un nouveau type de marquage basé sur l'incorporation d'acides aminés fluorescent (FDAA) dans le peptidoglycane des cellules en cours de croissance. Cette méthode permet de visualiser le peptidoglycane néo-synthétisé et donc la formation des cellules filles au cours d'un temps donné après l'ajout de FDAA. Nos observations montrent clairement que seules les swarmers sont en pleine croissance. Nous avons alors pu élaborer un modèle mathématique qui est en bon accord avec nos observations et mesures expérimentales (i.e. vitesse de migration, temps de doublement).

Nous avons également exploité ce système expérimental pour effectuer une analyse quantitative et spatio-temporelle de l'expression des ribonucléases clés, la RNaseJ1 et la RNaseY. De plus, nous avons étudié l'effet de la mutation des gènes correspondants à ces enzymes sur la capacité de swarming de *B. subtilis*. Par ailleurs nous avons montré par microscopie TIRF (Total Internal Reflexion Microscopy) que la RNaseY est associée à la membrane où elle se déplace très rapidement le long de la bicouche lipidique formant des foci fugaces. Ces foci sont indicatifs d'une oligomérisation temporaire de l'enzyme. Ni l'arrêt de transcription ni la surproduction d'un substrat n'ont eu d'effet sur la localisation de la RNase Y.

Mots clés : Swarming, dendrite, division, chimiotactisme, RNases, localisation, membrane.