



Mémoire bibliographique

Réponses physiologiques et moléculaires des bactéries à des fluctuations de la teneur en dioxygène

Maîtres de stage : **Agnès Richaume**

Co-encadrants : **Patrick Potier**

Pierre Renault

Claire Seguin

Année 2006-2007

Sommaire

Introduction _____ p3

1° partie : Les différents modes de production d'énergie métabolique

A) Organisation générale des chaînes respiratoires d'*E. Coli* _____ p5

B) Les respirations d'*E. Coli* _____ p6

- la respiration aérobie
- la respiration anaérobie

2° partie : Contrôle de l'expression des enzymes respiratoires

A) le système Arc _____ p9

B) la protéine Fnr _____ p10

- Détection du passage en anaérobiose
- Le double contrôle par la protéine Fnr et le système Arc

Conclusion _____ p14

Références bibliographiques _____ p15

Introduction

Les bactéries possèdent une plasticité métabolique remarquable qui leur confère une grande capacité d'acclimatation aux modifications physico-chimiques du milieu dans lequel elles se trouvent. Ce potentiel métabolique est vraisemblablement à l'origine de leur succès évolutif et leur a permis de coloniser, vivre et se développer dans l'ensemble des habitats terrestres, y compris les plus hostiles.

Comme toutes les formes du vivant, les bactéries ont besoin d'une source d'électrons et d'éléments tel que le carbone, l'azote, l'hydrogène, etc. pour initier leur métabolisme ainsi qu'une source d'énergie. La production d'énergie est toujours liée à un transfert d'électrons qui sont produits lors de réactions d'oxydation. La conservation de l'énergie libérée sous forme d'ATP repose sur deux types de mécanismes : (i) phosphorylation liée au substrat (fermentation) et (ii) phosphorylation couplée à un transport membranaire d'électrons (respiration, photosynthèse).

La phosphorylation liée au substrat est un processus qui a lieu en absence d'O₂, ou chez les bactéries qui ne savent pas l'utiliser. L'énergie est produite par oxydation séquentielle d'un composé organique grâce au NAD⁺ qui est réduit en NADH+H⁺. Une liaison phosphate riche en énergie, créée sur l'un des intermédiaires de la chaîne d'oxydation, est ensuite transférée sur l'ADP. La réoxydation du NADH+H⁺ est assurée par transfert d'électrons et de protons sur un accepteur terminal dérivé du substrat de départ. L'oxydation du substrat organique de départ étant obligatoirement incomplète, le rendement énergétique est donc faible.

Dans le cas de la phosphorylation couplée aux chaînes membranaires de transport d'électrons, le mouvement des électrons est initié soit par la lumière (photosynthèse), soit par oxydation de composés organiques ou inorganiques (respiration) (16). L'ATP est produit par passage des protons dans l'ATP-synthase grâce à la force proton-motrice (12) générée par le mouvement des électrons dans la membrane.

L'originalité de la respiration chez les bactéries concerne la nature de l'accepteur terminal d'électrons. Certaines bactéries, aérobies strictes, n'utilisent que l'oxygène comme accepteur terminal d'électrons et ne peuvent donc se développer que dans les milieux en permanence oxygénés. Celles qui ne peuvent pas utiliser l'oxygène comme un accepteur terminal sont anaérobies strictes. Ces bactéries sont

inféodées aux environnements en permanence anoxiques. C'est le cas par exemple, des bactéries méthanogènes du rumen ou des sédiments profonds (31).

La plupart des environnements terrestres ou aquatiques présentent des gradients et/ou des variations spatio-temporelles de leur teneur en oxygène. Dans de telles conditions, la capacité à utiliser un accepteur terminal différent de l'oxygène, quand celui-ci fait défaut, peut être envisagée comme un avantage. Ces bactéries, aérobies anaérobies facultatives, sont qualitativement et quantitativement très représentées dans les environnements naturels.

Ce rapport bibliographique s'intéressera aux réponses physiologiques et moléculaires des bactéries suite à des fluctuations de la teneur en O₂ dans leur environnement et présentera les mécanismes mis en jeu dans la perception des variations de la quantité d'oxygène disponible et dans la réponse qui en découle. Pour cela, nous nous baserons essentiellement sur le métabolisme respiratoire d'*Escherichia coli*, bactérie aérobie anaérobie facultative, capable de respirer sur différents accepteurs d'électrons dont le nitrate. Dans une première partie seront présentées les différentes voies respiratoires d'*Escherichia coli*. Une seconde partie sera consacrée aux systèmes de régulation permettant de réguler l'expression des enzymes respiratoires dans des conditions d'oxygénation fluctuantes.

1° partie : Les différents modes de production d'énergie métabolique

E.coli constitue un bon exemple de versatilité respiratoire. C'est une bactérie anaérobie facultative capable de tirer l'énergie nécessaire à sa croissance et son métabolisme à partir de mécanismes très variés. Cette bactérie peut en effet utiliser, en fonction de la composition du milieu, les processus de fermentation et de phosphorylation oxydative, en utilisant soit l'oxygène en aérobose, soit d'autres accepteurs d'électrons comme le nitrate, le DMSO, TMAO, etc. en anaérobose.

A) Organisation générale des chaînes respiratoires d'*E.coli*

La chaîne respiratoire est un ensemble de complexes protéiques inclus dans la membrane plasmique auxquels sont associés deux cofacteurs qui assurent l'interface entre les complexes. La chaîne respiratoire va récupérer de l'énergie stockée dans le NADH et le FADH₂ pour créer un gradient de protons qui va fournir une quantité d'énergie nécessaire à la synthèse d'ATP.

Les chaînes respiratoires fonctionnent à l'aide de trois modules fonctionnels :

- les flavoprotéines, permettant de réoxyder les co-enzymes réduits (NAD, FAD etc.)
- un pool de quinones
- une chaîne de cytochrome conduisant les électrons jusqu'à l'accepteur final.

Les chaînes respiratoires d'*Escherichia coli* sont constituées de deux types d'enzymes articulées autour d'un réservoir de quinones : les déshydrogénases et les réductases terminales, pouvant agir entre elles par l'intermédiaire des quinones (Fig.1).

Les quinones sont des molécules liposolubles, intrinsèques de la membrane plasmique, permettant le transfert des électrons entre les différentes protéines de la chaîne. La nature des quinones varie en fonction des paramètres physico-chimiques du milieu. *E.coli* en synthétise trois types en fonction des conditions d'oxygénation : l'ubiquinone sous forte oxygénation, les ménaquinones sous faible oxygénation, les déméthylménaquinones en présence de nitrate. La composition de ce pool de quinones varie beaucoup au cours de la transition aérobose anaérobose (1).

La composition enzymatique des chaînes respiratoires est le reflet de la nature des substrats concernés présents dans le milieu, entraînant alors la formation de chaînes respiratoires spécifiques dont le contenu enzymatique est fortement régulé par les accepteurs d'électrons.

Les cytochromes constituent un groupe de protéines se caractérisant par la nature de leur groupement hémique. Ils interviennent comme transporteurs d'électrons membranaires de manière séquentielle jusqu'à l'accepteur final d'électrons. (**Fig. 2**)

Les protéines respiratoires peuvent se distinguer en trois classes (28).

- les protéines possédant à la fois des pôles hydrophiles et hydrophobes (NuoA-N, GlpABC, FrdABCD, NrfAB)
- les protéines fortement hydrophobes intrinsèques de la membrane (Cyt o et Cyt d)
- les protéines hydrophiles faiblement liées à la membrane (Ndh, NapABCD)

(**Fig.1**).

B) Les respirations d'*E. coli*

La composition protéique des membranes, ainsi que des réducteurs et des oxydants pouvant participer aux chaînes de transport d'électrons est extrêmement diverse et varie en fonction des conditions de croissance, comme la phase de croissance, la nature de l'accepteur final d'électrons, la source de carbone, ou la souche considérée. On distingue essentiellement deux respirations se différenciant par la nature de l'accepteur final d'électrons.

➤ la respiration aérobie

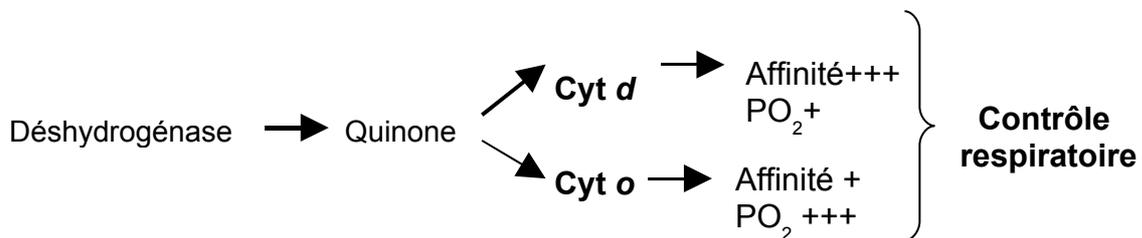
Dans la respiration aérobie, l'accepteur final d'électrons est l'O₂. Cette respiration est la plus favorable d'un point de vue énergétique en raison de son fort potentiel redox ($E^{\circ} = + 820\text{mV}$). Elle est caractérisée par les cytochromes oxydases *o* et *d* qui reçoivent des électrons de l'ubiquinone qui est majoritairement synthétisée en aérobiose (6).

Ces deux cytochromes ont une signification métabolique différente. Le cytochrome *d* possède une très grande affinité pour l'oxygène et sa formation est induite par de faibles conditions d'oxygénation (faible pression partielle en O₂).

Lorsque l'oxygénation du milieu est moindre, la membrane est restructurée et il y a mise en place d'une dérivation dans le trajet des électrons (le cytochrome *o* est remplacé par le cytochrome *d*) ; dans cette situation, il n'y a production que d'une mole d'ATP par mole de NADH, H⁺ oxydée au lieu de deux.

Le cytochrome *o* possède en revanche une moins bonne affinité pour l'oxygène et est présent quand l'oxygénation du milieu est élevée (forte pression partielle en O₂) (23,24). Sa régulation est l'inverse de celle du cytochrome *d*.

Ceci représente un contrôle de la respiration. En effet, à forte pression d'O₂ et donc à fort potentiel électrochimique (PMF), l'affinité réduite du cytochrome *o* pour l'O₂ fait chuter la réactivité du système pour l'O₂ qui, en excès, devient toxique. En condition optimale (P_{O₂} > 5 mbar) (3), les deux voies fonctionnent simultanément.



L'O₂ est l'accepteur favorisé lorsqu'il est en quantité suffisante dans le milieu, et sa présence réprime la synthèse des chaînes respiratoires anaérobies.

➤ la respiration anaérobie

Dans la respiration anaérobie, ce sont des accepteurs d'électrons autres que l'O₂ qui sont utilisés. Cette respiration est moins efficace que la respiration aérobie en terme énergétique. La diminution du rendement en ATP provient du fait que les accepteurs d'électrons ont des potentiels de réduction moins positifs que l'O₂ ; le rendement de cette respiration reste néanmoins plus élevé que celui du processus de fermentation. En absence d'O₂, des réductases terminales alternatives sont synthétisées chez *E.coli*. Elles peuvent utiliser comme accepteurs d'électrons le fumarate, le nitrate, le nitrite, ou des oxydes de soufre ou d'azote (DMSO, TMAO).

Quand le nitrate est l'accepteur final d'électrons, *E.coli* est capable de respirer en le réduisant en nitrite. En l'absence d'O₂ et s'il est présent dans le milieu, le nitrate est l'accepteur final d'électrons le plus favorable sur le plan énergétique (entre 67 et 71%

du rendement obtenu par la respiration aérobie) (26) et inhibe les autres chaînes anaérobies.

E.coli synthétise trois types de nitrate réductase : NRA, NRZ et NAP.

NRA et NRZ sont d'origine membranaire et sont induites par NO_3^- en absence d' O_2 .

NRA codée par l'opéron *NarGHI* est responsable de la majorité de l'activité nitrate réductase. NRZ est codée par l'opéron *NarZYV* et fournirait l'énergie nécessaire à la biosynthèse des enzymes de la respiration anaérobie au moment de l'entrée en phase stationnaire (5,7).

NAP est d'origine périplasmique. Elle est codée par le gène *NapAB*. L'effet de l' O_2 et du nitrate sur NAP et les expressions induites résultantes, varient en fonction des espèces : chez *E.coli*, l'expression de NAP est inhibée par l' O_2 et induite par NO_3^- alors que chez *Paracoccus denitrificans* par exemple, NAP est responsable de la dénitrification aérobie et de la transition à la respiration anaérobie (4) (Fig. 1).

E.coli est capable d'inhiber ses différentes voies de génération d'énergie en orientant les flux d'électrons de la chaîne respiratoire vers l'accepteur le plus énergétique (10) ce qui permet un fonctionnement optimal des enzymes respiratoires alternatives.

Ces différentes voies font l'objet d'un contrôle hiérarchique et d'une régulation complexe où la disponibilité de l'oxygène joue un rôle important et contrôle l'expression de plus de deux cents gènes (19).

2° partie : Contrôle de l'expression des enzymes respiratoires

Les procaryotes ont élaboré un grand nombre de mécanismes leur permettant de s'adapter à des changements environnementaux, notamment aux disponibilités en oxygène ou en accepteurs finaux d'électrons du milieu. Le passage de l'anaérobiose à l'aérobiose et vis versa s'accompagne de profonds bouleversements métaboliques chez les bactéries anaérobies facultatives comme *E.coli*. Le facteur prépondérant dans la régulation des enzymes respiratoires est l'oxygène moléculaire. L'O₂ diffuse librement à travers la membrane plasmique et son action régulatrice passe par l'intermédiaire de deux systèmes: un système régulateur à un composant, la protéine Fnr qui agit sur la respiration anaérobie et un système à deux composants, le système Arc contrôlant l'expression des gènes de la respiration aérobie.

A) Le système Arc (aerobic respiration control)

Le système Arc est un système membranaire à deux composantes (21), dont le principe de fonctionnement est commun à d'autres systèmes du même type. En réponse à un signal environnemental, un premier composant qui sert de capteur (senseur) va s'autophosphoryler en présence d'ATP, afin de renseigner la machinerie sur les conditions extérieures. Le groupement phosphate va ensuite être transféré à un deuxième composant qui, sous sa forme active, va se transformer en un régulateur de transcription. Toute une série de gènes voient ainsi leur expression modifiée en conséquence (Fig. 3) (22).

Le système Arc s'active en réponse aux conditions d'oxygénation du milieu. Lors du passage de l'aérobiose à l'anaérobiose, il permet la répression de plusieurs gènes codant pour des fonctions aérobies. Ce système Arc est composé d'un gène *ArcB* qui code une protéine sensorielle membranaire et d'un gène *ArcA* codant un régulateur de transcription. *ArcB* contient trois domaines catalytiques : **H1**, qui est un domaine émetteur en N-terminal contenant un résidu His-292, **D1** qui est un domaine récepteur central avec un résidu Asp-576 et **H2** qui est un autre domaine émetteur

mais en C-terminal avec un résidu His-717. *ArcA* possède un résidu Asp-54 (13) (Fig.5).

ArcB s'autophosphoryle aux dépens de l'ATP en réponse à une chute de la concentration ambiante en O₂. Le complexe *ArcB*-Ph exerce, en anaérobiose, une activité kinase sur *ArcA* où le transfert du groupement phosphate se fait par un système relais de phosphorylation qui est His→Asp→His→Asp (13, 15).

Séquentiellement, le groupement phosphate va passer du résidu His-292 du domaine H1, au résidu Asp-576 du domaine D1, au résidu His-717 du domaine H2, pour enfin aller se fixer sur le résidu Asp-54 de *ArcA*.

Le nouveau complexe *ArcA*-Ph est alors sous sa forme active et va entraîner d'une part, la répression de la synthèse de nombreuses enzymes (pyruvate déshydrogénase, fumarate déshydrogénase) ainsi que la diminution de l'affinité de l'oxydase du cytochrome *o* pour l'oxygène au niveau de la chaîne respiratoire ; et l'activation de la synthèse d'autres enzymes notamment celles impliquées dans le métabolisme fermentatif (18, 29) (Fig. 4A)

B) La protéine Fnr

Fnr (fumarate nitrate réductase) est une protéine cytoplasmique constitutive et auto régulatrice requise pour le passage de la respiration aérobie à la respiration anaérobie (27).

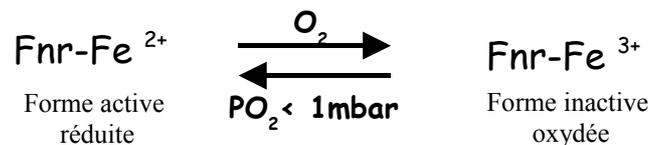
Elle représente le second régulateur principal lors de cette transition (14, 25).

Cette protéine est à la fois un capteur de la concentration intracellulaire en oxygène et un régulateur de transcription. Elle possède un centre Fer/soufre pouvant être oxydé ou réduit par un processus réversible. Ce groupement Fe/S est essentiel pour capter le passage en anaérobiose ; c'est son état d'oxydoréduction qui va déterminer l'activité de cette protéine.

➤ Détection du passage en anaérobiose :

La protéine Fnr est synthétisée de manière constitutive sous une forme inactive (état oxydé). Le centre Fe/S exposé en surface va réagir en absence d'oxygène (PO₂ < 1 mbar) avec des réducteurs cellulaires (enzymes, thiol, glutathion...), ce qui entraîne

un changement conformationnel de la protéine la faisant alors passer sous sa forme active (20, 27) (Fig. 4B).



La forme réduite de Fnr peut se lier au promoteur de certains gènes et ainsi réguler leur expression. Elle va notamment activer la transcription des gènes impliqués dans la respiration anaérobie et réprimer celle de quelques gènes de la respiration aérobie (Tab.1). Lors du retour en condition aérobie, l'oxygène diffusant librement à travers la membrane plasmique modifie l'état redox du centre Fe/S et fait passer Fnr de sa forme active à sa forme inactive (27). Le passage d'une forme active à inactive est donc réversible (11). La concentration extracellulaire en O₂ peut être captée par la protéine Fnr malgré sa localisation cytoplasmique. Pour des pressions partielles en O₂ allant de 1 à 5 mbar, l'oxygène diffusant dans la cellule excède les capacités de consommation cellulaire. De l'oxygène est alors disponible pour réagir directement avec la protéine Fnr, provoquer son inactivation et bloquer la régulation des gènes Fnr-dépendants.

La plupart des protéines Fnr permettent de maximiser la capacité de génération d'énergie lors de périodes anaérobies. Cette protéine Fnr peut également avoir comme cible de nombreux autres promoteurs, comme ceux des transporteurs transmembranaires (narK), ceux des enzymes du catabolisme anaérobie, ou ceux des régulateurs de transcription (ArcA, NarX), etc.

Quelles que soient les conditions d'oxygénation, la protéine Fnr est synthétisée en petite quantité et de manière relativement constante (2, 14, 30).

➤ Le double contrôle par la protéine Fnr et le système Arc :

Plusieurs gènes impliqués dans le métabolisme respiratoire aérobie et anaérobie sont à la fois régulés par le système Arc et la protéine Fnr.

Les deux cytochromes terminaux *o* et *d* sont soumis à un double contrôle par *ArcA* et Fnr. Ces deux cytochromes sont respectivement codés par les opérons *cyoABCDE* et *cydAB*. A travers ce double contrôle, Fnr agit comme répresseur sur *cyoABCDE* et

cydAB en condition anaérobie (8,9). *ArcA* réprime également *cyoABCDE* en anaérobiose mais active *cydAB* lors de transition aérobie anaérobie (Fig. 6) (9, 18). La synthèse du cytochrome *o*, commandée par *cyoABCDE*, est fortement réprimée en anaérobiose. Le facteur de diminution est d'environ 70 sous l'effet de *ArcA*, 35 fois avec *Fnr*, et de 90 sous l'action combinée des deux protéines. La synthèse du cytochrome *d* (*cydAB*) diminue d'un facteur 12 sous l'action de *Fnr*, alors que *ArcA* l'active dans la proportion inverse. Le cytochrome *d* a une affinité pour l'oxygène qui est environ 10 fois plus élevée que celle du cytochrome *o*. Les bactéries l'utilisent donc quand la pression partielle en O₂ du milieu diminue notablement.

Il est important de préciser que ces différents contrôles se font de manière hiérarchique. En effet, pour que le fonctionnement des enzymes des respirations alternatives soit optimal, la transcription de leur gène est régulée spécifiquement en fonction des accepteurs d'électrons disponible dans le milieu. Ces régulations agissent généralement en fonction de l'O₂ (système Arc et *Fnr*) et du nitrate (système *Nar*). Mais il existe aussi des régulations dépendant du fumarate, du DMSO ou du TMAO.

Conclusion

Le métabolisme anaérobie facultatif d'E.coli est un exemple illustrant la capacité des bactéries à se développer dans des environnements différents par l'intermédiaire de contrôle de l'expression génétique permettant de respirer sur un grand nombre de substrats. Les différents systèmes de régulations précédemment décrits offrent aux bactéries une capacité d'acclimatation importante à des changements rapides d'oxygénation du milieu. Ces régulations ont pour but d'optimiser le métabolisme bactérien afin d'obtenir la meilleure production d'ATP possible, tout en préservant les voies métaboliques essentielles.

Chaque enzyme respiratoire est exprimée spécifiquement dans les conditions adéquates ; la synthèse du cytochrome *d* en condition micro aérobie permet le lien entre les respirations aérobies et anaérobies, et résulte notamment des régulations antagonistes combinées du système Arc et de la protéine Fnr (29).

Les synthèses de chaînes respiratoires spécifiques sous le contrôle de régulations multiples expliquent en partie la diversité et la plasticité métabolique bactérienne, mais ne suffisent pas à expliquer l'ubiquité de tels microorganismes. Elles permettent dans tous les cas des adaptations optimales à des environnements changeants.

Beaucoup de questions restent en suspens concernant les contrôles métaboliques lors de la transition aérobie/anaérobie notamment au sujet du signal environnemental détecté par certains régulateurs. L'étude des mécanismes d'adaptation à l'oxygénation fluctuante est d'intérêt écologique car elle permet de comprendre la compétitivité de certains microorganismes comme ceux de la communauté dénitrifiante. Cette communauté a en effet beaucoup d'importance ; sur le plan fonctionnel, elle participe au contrôle des échanges d'azote entre la biosphère et l'atmosphère et à l'équilibre d'une des formes minérales de l'azote, le nitrate. Le processus de dénitrification est donc impliqué dans les pertes d'azote du système sol ainsi que dans l'émission de gaz traces polluants (oxydes d'azote). Ce processus conditionne également la disponibilité des principales formes azotées pour la nutrition végétale. Le retour en aérobie ainsi que les alternances entre aérobie et anaérobie dans les sols suscitent des interrogations quant à la résilience de cette communauté au niveau qualitatif, quantitatif et fonctionnel ainsi qu'à l'incidence que peuvent avoir ces alternances sur les relations diversité, densité, activité au sein de cette communauté.

Références Bibliographiques

- (1) Alexander I. Shestopalov, Alexander V. Bogachev, Rakhilya A. Murtazina, Mikhail B. Viryasov, Vladimir P. Skulachev. Aeration dependent changes in composition of the quinone pool in *Escherichia coli*, evidence of post transcriptional regulation of the quinone biosynthesis. *FEBS Lett* 1997; 404: 272-274.
- (2) Becker S, Holigauss G, Gabrielczyk T, Uden G. O₂ as a regulatory signal for FNR dependent gene regulation in *E.coli*. *J. Bacteriol* 1996; 178: 4515-4521.
- (3) Becker S, Vlad D, Schuster S, Pfeiffer P, Uden G. Regulatory O₂ tensions for the synthesis of fermentation products in *E.coli* and relation to aerobic respiration. *Arch Microbiol* 1997; 168: 290-296.
- (4) Bedzik L, Wang T, Ye R. The periplasmic nitrate reductase in *Pseudomonas sp.* Strain G-179 catalyzes the first step of denitrification. *J. Bacteriol* 1999; 181:2802-2806.
- (5) Bonnefoy V, DeMoss JA. Nitrate reductase in *E.coli*. *Antonie van Leeuwenhoek* 1994; 66: 47-56.
- (6) Brice JM, Law JF, Meyer DJ, Jones CW. Energy conservation in *E.coli* and *Klebsiella pneumoniae*. *Biochemistry. Soc. Trans* 1974; 2:523-526.
- (7) Change L, I-C. Wei L, Audia J, Morton R, Schellhorn H. Expression of the *E.coli* NRZ nitrate reductase is highly growth phase dependant and is controlled by RpoS, the alternative vegetative sigma factor. *Molec. Microbiol* 1999; 34 (4): 756-766.
- (8) Cotter P.A, Chepuri V, Gennis R.B, Gunsalus R.P. Cytochrome *o* (*cyoABCDE*) and *d* (*cydAB*) oxidase gene expression in *Escherichia coli* is regulated by oxygen, Ph, and the Fnr gene product. *J. Bacteriol* 1990; 172: 6333-6338.
- (9) Cotter P.A and Gunsalus R.P. Contribution of the *fnr* and *arcA* gene products in coordinate regulation of the cytochrome *o* (*cyoABCDE*) and *d* (*cydAB*) oxidase genes in *Escherichia coli*. *FEMS Microbiol. Lett* 1992; 91:31-36.
- (10) Denis K, Dias F, Rowe J. Oxygen regulation of nitrate transport by diversion of electron flow in *E.coli*. *J. Biol. Chem* 1990; 265 (30): 18095-18097.
- (11) Engel P, Trageser M, Uden G. Reversible interconversion of the functional state of the gene regulator FNR from *Escherichia coli* in vivo by O₂ and iron availability. *Arch. Microbiol* 1991; 156: 463-470.
- (12) Gennis R, Stewart V. Respiration in *Escherichia coli* and *Salmonella*, Neihardt (Ed), ASM Press, Washington, DC 1996; pp 217-261
- (13) Georgellis D, Dwon O, Edmund C, Lin C. Amplification of signaling activity of the Arc two-component system of *Escherichia coli* by anaerobic metabolites. *Biological Chemistry* 1999; Vol 274, No 50: 35950-35954.
- (14) Gunsalus R.P. Control of electron flow in *Escherichia coli*: coordinated transcription of respiratory pathway genes. *J. Bacteriol* 1992; 174: 7069-7074.
- (15) Gunsalus R.P, Park S.-J. Aerobic-anaerobic gene regulation in *Escherichia coli*: control by the ArcAB and Fnr regulon. *Res Microbiol* 1994; 145 (5-6): 437-450.

- (16) **Haddock B, Jones C.** Bacterial respiration. *Bacteriol* 1977; *Rev. Mar.* 1977: 47-99.
- (17) **Iobbi C, Santini C, Bonnefoy V, Giordano G.** Biochemical and immunological evidences for a second nitrate reductase of *E.coli*K12. *Eur. J. Biochem* 1987; 168: 451-459.
- (18) **Iuchi S et Lin ECC.** *ArcA* (dye), a global regulatory gene in *Escherichia coli* mediating repression of enzymes in aerobic pathway. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1988; 85: 1888-1892.
- (19) **Kang Y, Derek Weber K, Qiu Y, Kiley P.J, Blattner F.R.** Genome-wide expression analysis indicates that FNR of *Escherichia coli* K-12 regulates a large number of genes of unknown function. *Journal of Bacteriology* 2005; No. 3 Vol.187: 1135-1160.
- (20) **Khoroshilova N, Beinert H, Kiley P.J.** Association of a polynuclear iron sulphur center with a mutant FNR protein enhances DNA binding. *Proc. Natl. Acad. Sci* 1995; 92: 2499-2503.
- (21) **Levenon S.S, San K.Y, Bennett G.N.** Effect of oxygen on the *Escherichia coli* *ArcA* and FNR regulation systems and metabolic responses. *Biotechnology and Bioengineering* 2005; Vol. 89, No. 5
- (22) **Pelmont J.** Bactéries et environnement, adaptations physiologiques. *Collection Grenoble Sciences* 1993; Chap 24: 628- 632.
- (23) **Poole R.K and Ingledew W.J.** Pathways of electrons to oxygen. pp. 170-200, in “*Escherichia coli* and *Salmonella typhimurium*: cellular and molecular biology” (F.C Neidhardt). American Society for Microbiology, Washington, DC 1987
- (24) **Rice C.W and Hempfling W.P.** Oxygen limited continuous culture and respiratory energy conservation in *Escherichia coli*. *J. Bacteriol* 1978; 134: 115-124.
- (25) **Spiro S and Guest J.R.** FNR and its role in oxygen regulated gene expression in *Escherichia coli*. *FEMS Microbiol. Rev* 1990; 75: 399-428.
- (26) **Stouthamer A, Boogerd C, H van Verseveld.** The bioenergetics of denitrification. *Antonie van Leeuwenhoek* 1982; 48: 545-553.
- (27) **Uden G, Schirawski J.** The oxygen responsive transcriptional regulator FNR of *Escherichia coli*: the search for signals and reactions. *Molec. Microbiol* 1997; 25(2): 205-210.
- (28) **Uden G, Bongaerts J.** Alternative respiratory pathway of *Escherichia coli*: energetics and transcriptional regulation in response to electron acceptors. *Biochim. Biophys. Acta* 1997; 1320: 217-234.
- (29) **Uden G, Becker S, Bongaerts J, Holighaus G, Schirawski J, Six S.** O₂ sensing and O₂ dependent gene regulation in facultative anaerobic bacteria. *Arch. Microbiol* 1995; 164: 81-90.
- (30) **Uden G, Trageser M.** Oxygen regulated gene expression in *Escherichia coli*: control of anaerobic respiration by the FNR protein. *Antonie van Leeuwenhoek* 1991; 59: 65-76.
- (31) **Valentine D.L.** Biogeochemistry and microbial ecology of methane oxidation in anoxic environments: a review, *Antonie van Leeuwenhoek* 2002; 81: 271-282.

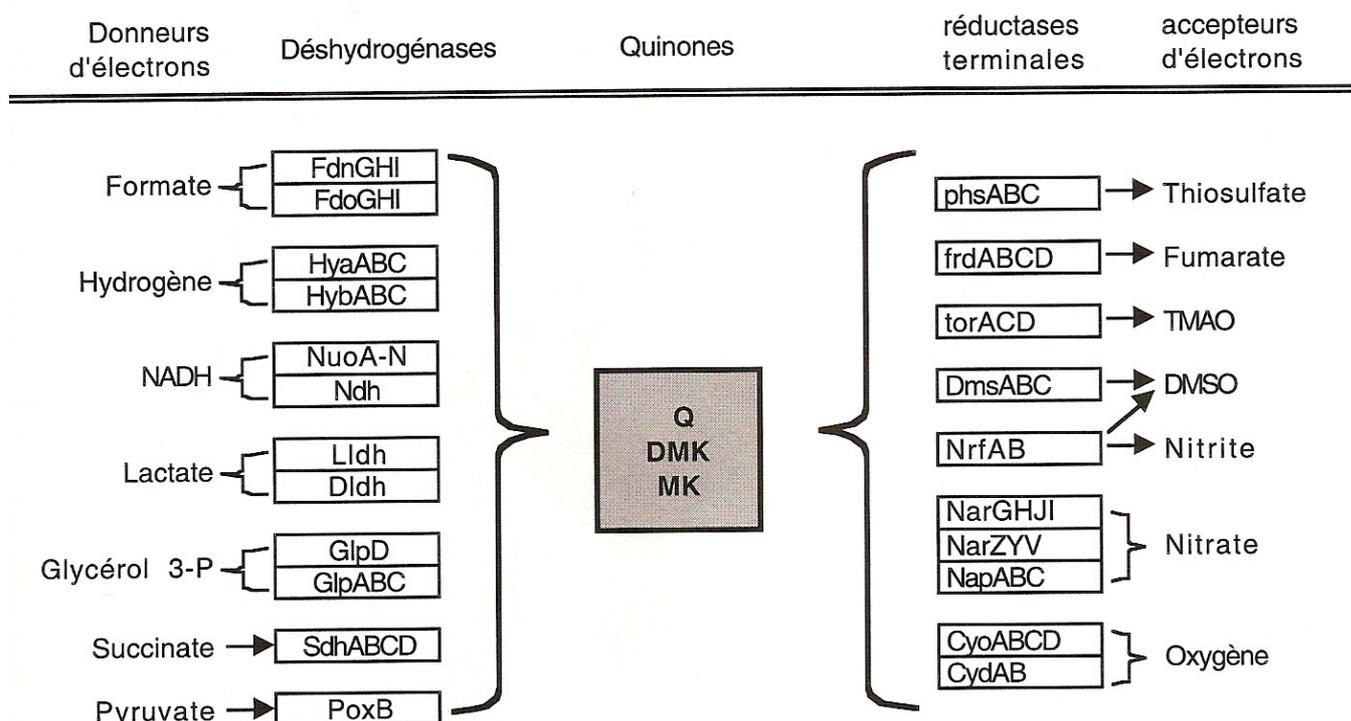


Fig. 1 : Modularité des chaînes respiratoires d'*E.coli*

Les électrons passent respectivement, du donneur, aux déshydrogénases, aux quinones, puis par les réductases terminales jusqu'à l'accepteur final qui varie en fonction des respirations (12).

Abréviations :

Déshydrogénases

- Fnd/o** : formate déshydrogénase N et o
- Hya/b** : hydrogénase 1 et 2
- Nuo et Ndh** : NADH DH 1 et 2
- Lldh et Dldh** : L et D- lactate DH
- GlpD/ABC** : glycérol 3-phosphate DH aérobie et anaérobie
- Sdh** : succinate DH
- Pox** : pyruvate DH

Réductases terminales

- Phs** : thiosulfate réductase
- Frd** : fumarate réductase
- Dms** : DMSO réductase
- Tor** : TMAO réductase
- Nrf** : nitrite réductase formate dépendante
- NarG/Z** : nitrate réductase membranaire
- Nap** : nitrate réductase périplasmique
- Cyo/d** : cytochrome bo et bd oxydases

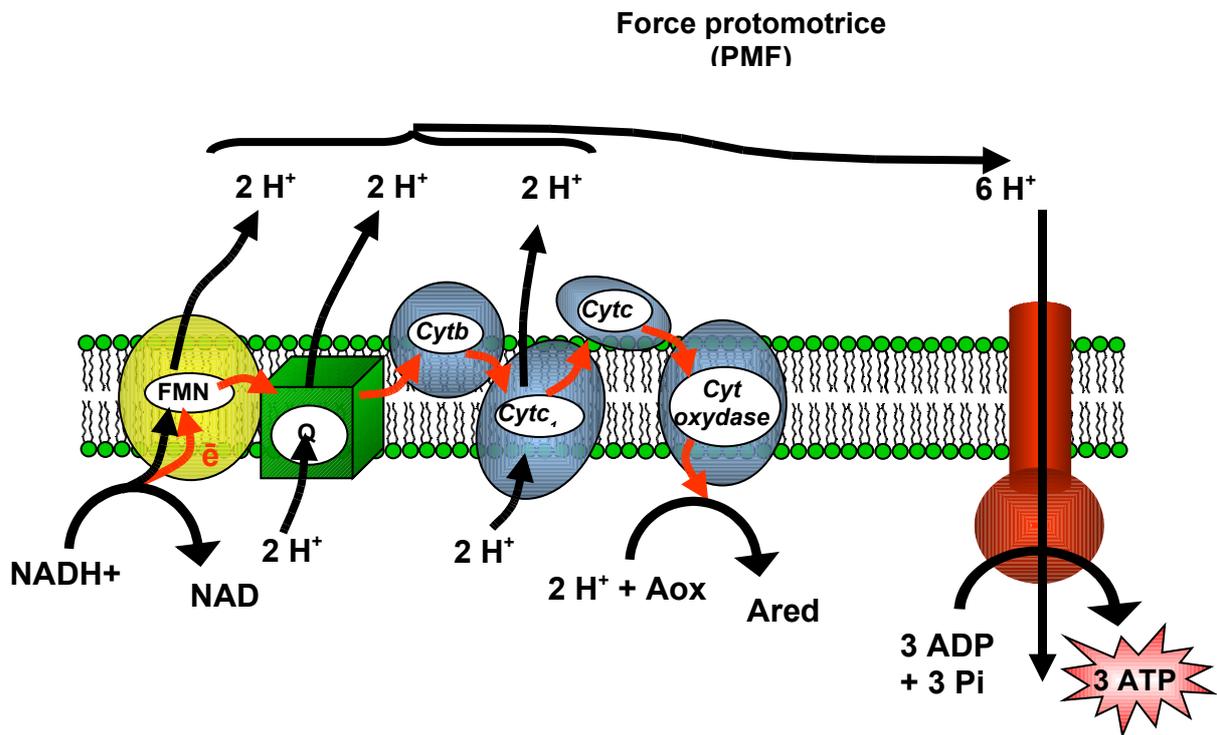


Fig. 2 : Organisation fonctionnelle des chaînes respiratoires
 L'accepteur final d'électrons peut être, l' O_2 , NH_4^+ , NO_3^- , NO_2^- , SO_4^{2-} , CO_2 , Fe^{2+} , etc.

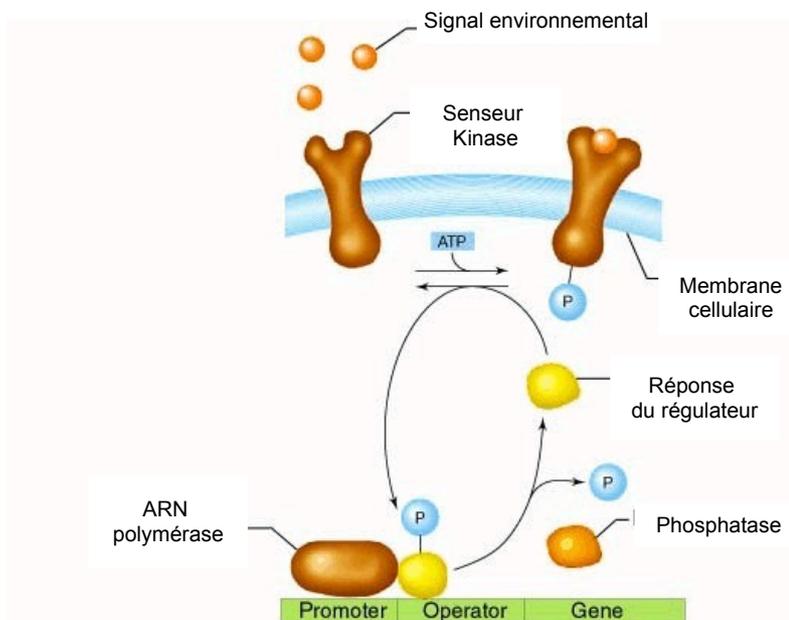
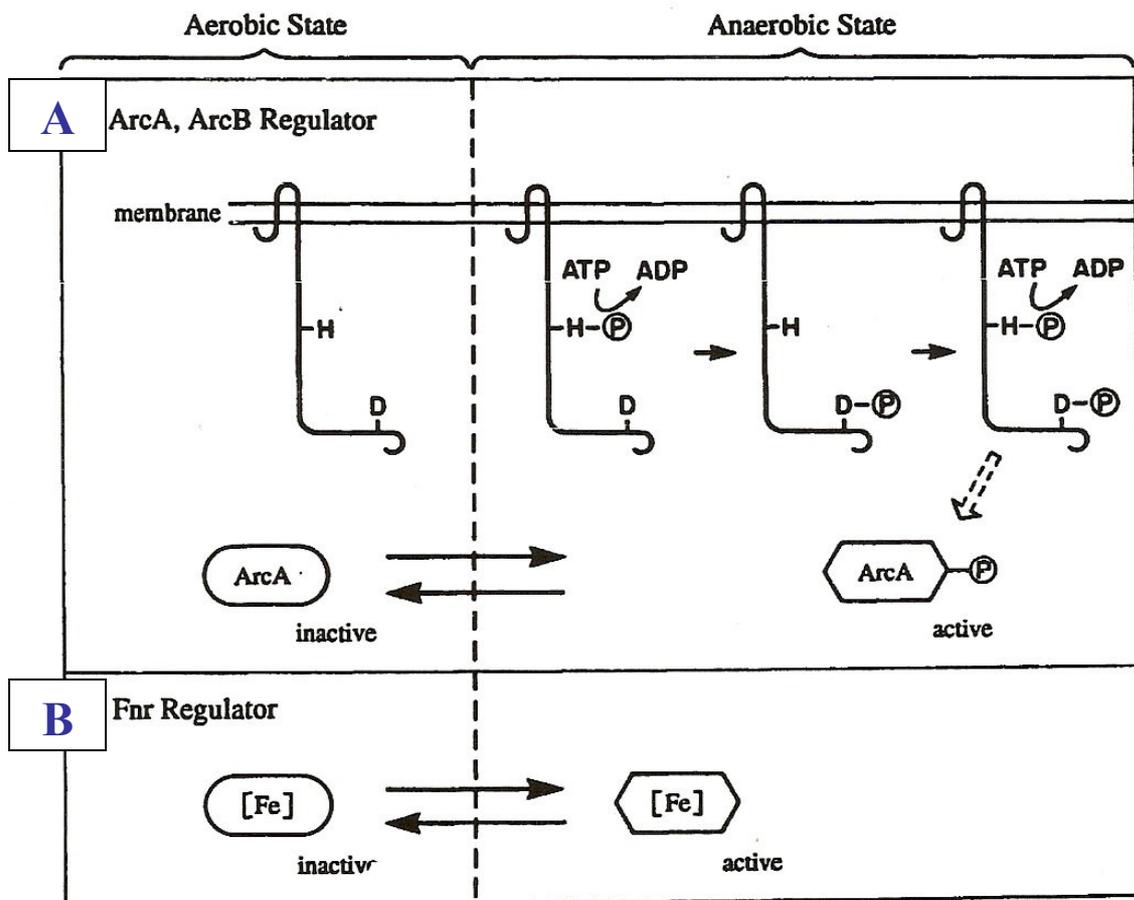
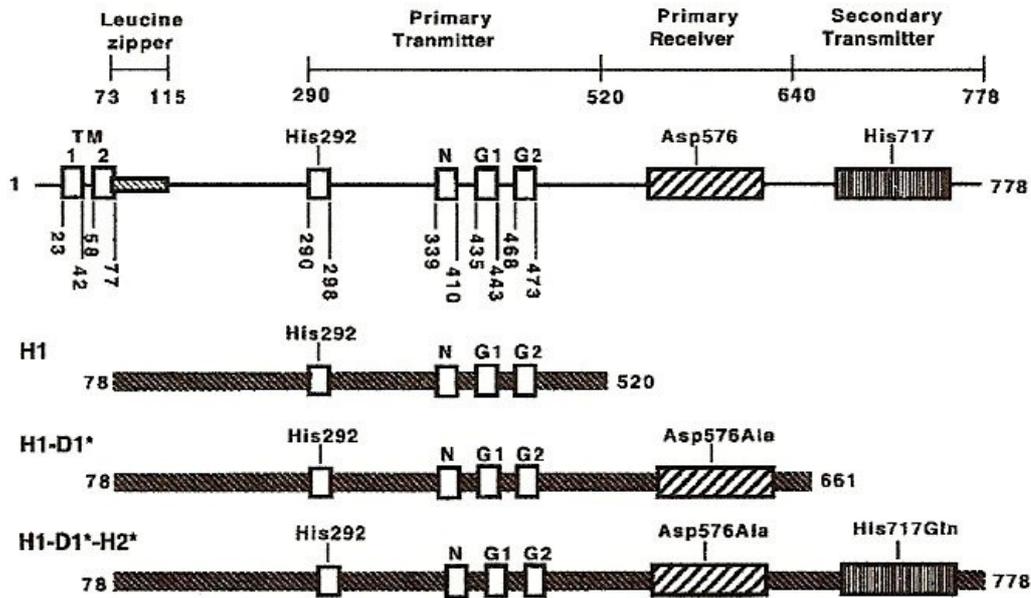


Fig. 3: Principe général de fonctionnement d'un système à deux composants.
 (explication texte, 2^o partie p7, A), §1)



**Fig.4: Fonctionnement du système Arc (A) et Fnr (B) en condition aérobie et anaérobie (15). (A explication texte, 2° partie p7, A), §3)
(B explication texte, 2° partie p8, B), §2)**

ArcB sensor kinase protein



ArcA response regulator protein

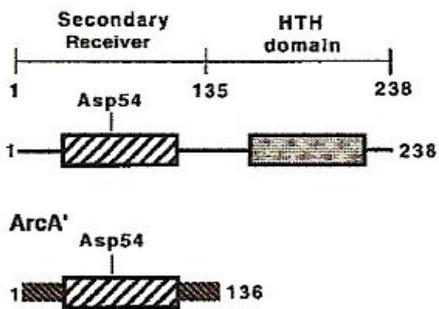


Fig. 5 : Représentation schématique du fonctionnement du système ArcA et ArcB (13) (explication texte, 2^o partie p7, A), §2 et §3)

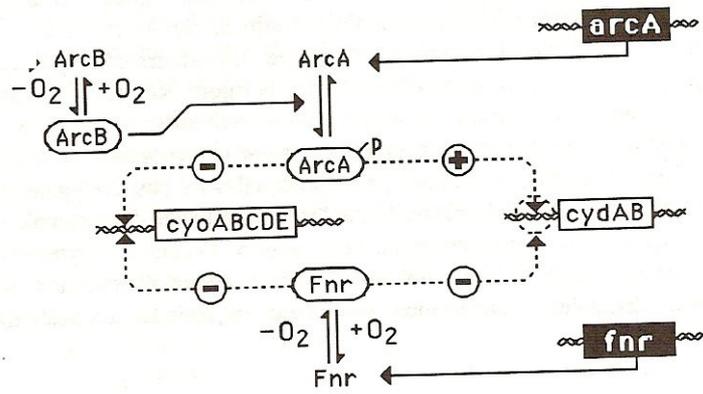


Fig. 6 : Double contrôle par le système Arc et la protéine Fnr sur les cytochromes terminaux (21). (explication texte, 2^o partie p9-10)

Reaction	Enzyme	Genes	Fnr	ArcA
Aerobic carbon flow				
1	pyruvate dehydrogenase	<i>aceEF, lpd</i>		
2	isocitrate synthase	<i>gltA</i>		(⊖)
3	aconitase	<i>acn</i>		(⊖)
4	citrate dehydrogenase	<i>icd</i>		(⊖)
5	α-ketoglutarate dehydrogenase	<i>sucAB</i>		(⊖)
6	succinate thiolkinase	<i>sucCD</i>		(⊖)
7	succinate dehydrogenase	<i>sdhCDAB</i>	⊖	⊖
8	fumarase A (aerobic)	<i>fumA</i>		
9	malate dehydrogenase	<i>mdh</i>		(⊖)
10	L-lactate dehydrogenase (aerobic)	<i>lctD</i>		
Anaerobic carbon flow (fermentation)				
1	PEP carboxylase	<i>ppc</i>		
2	lactate dehydrogenase (anaerobic)	<i>ldhA</i>		
3	pyruvate formate lyase	<i>pfl</i>	⊕	⊕
4	formate hydrogen lyase	<i>fdhF, hyc</i>		
5	acetaldehyde dehydrogenase	<i>acd</i>		
6	alcohol dehydrogenase	<i>adhE</i>		
7	phosphotransacetylase	<i>pta</i>		
8	acetate kinase	<i>ackA</i>		
9	malate dehydrogenase	<i>mdh</i>		(⊖)
10	fumarase B (anaerobic)	<i>fumB</i>	⊕	
11	fumarate reductase	<i>frdABCD</i>	⊕	
Respiratory pathways (terminal oxidoreductases)				
1	cytochrome o oxidase	<i>cyoABCDE</i>	⊖	⊖
2	cytochrome d oxidase	<i>cydAB</i>	⊖	⊕
3	nitrate reductase	<i>narGHJI</i>	⊕	
4	nitrite reductase	<i>nirB</i>	⊕	
5	DMSO/TMAO reductase	<i>dmsABC</i>	⊕	
6	TMAO reductase	<i>torA</i>	(⊕)	
7	fumarate reductase	<i>frdABCD</i>	⊕	
Other				
1	NADH dehydrogenase (aerobic)	<i>ndh</i>	⊖	
2	formate dehydrogenase-N	<i>fdnGHI</i>	⊕	
3	glycerol-P dehydrogenase (aerobic)	<i>glpD</i>		⊖
4	glycerol-P dehydrogenase (anaerobic)	<i>glpACB</i>	⊕	
5	nitrite efflux	<i>narK</i>	⊕	
6	fumarate uptake (anaerobic)	?	(⊕)	
7	nickel uptake	<i>hydC</i>		
8	molybdate uptake	<i>modABCD</i>		
9	lactate uptake	<i>lctP</i>		
10	superoxide dismutase	<i>sodA</i>	⊖	⊖

Tab. 1 : Gènes et enzymes impliqués dans les flux de carbone et dans la respiration cellulaire aérobie et anaérobie (15)

Le symbole ⊕ indique un contrôle positif (activation transcriptionnelle de l'expression de gène) par Fnr ou par *ArcA*.

Le symbole (⊖) (⊕) indique un contrôle provisoire par *ArcA* et Fnr uniquement basé sur des essais sur des mutants et des enzymes.

Le symbole ⊖ indique un contrôle négatif (répression transcriptionnelle de l'expression de gène) par *ArcA* et Fnr.

Les espaces vides indiquent qu'il n'existe pas de contrôle par *ArcA* et Fnr, et que l'action des deux combinés n'est pas encore déterminée.

