



## UvA-DARE (Digital Academic Repository)

### The minimalistic divisome reveals power of the cell division machinery

Saaki, T.N.V.

**Publication date**

2019

**Document Version**

Other version

**License**

Other

[Link to publication](#)

**Citation for published version (APA):**

Saaki, T. N. V. (2019). *The minimalistic divisome reveals power of the cell division machinery*.

**General rights**

It is not permitted to download or to forward/distribute the text or part of it without the consent of the author(s) and/or copyright holder(s), other than for strictly personal, individual use, unless the work is under an open content license (like Creative Commons).

**Disclaimer/Complaints regulations**

If you believe that digital publication of certain material infringes any of your rights or (privacy) interests, please let the Library know, stating your reasons. In case of a legitimate complaint, the Library will make the material inaccessible and/or remove it from the website. Please Ask the Library: <https://uba.uva.nl/en/contact>, or a letter to: Library of the University of Amsterdam, Secretariat, Singel 425, 1012 WP Amsterdam, The Netherlands. You will be contacted as soon as possible.

# Chapter 5 English Summary en Nederlandse samenvatting

Summary and discussion

Effect of divisome minimization on cell division

The importance of the SepF-SftA interaction

Cell division as cue for chemoreceptor sorting

Future work

The minimal Bacillus divisome

Direct relation between chromosome decatenation and cell  
division

Nederlandse samenvatting

Het minimalistische divisoom onthult de kracht van de  
celdelingsmachine

Literatuurlijst

## English Summary

Bacterial resistance towards antibiotics is an increasing worldwide health problem with the potential to seriously endanger modern medicine without prudent measures (ECDC, 2016). Bacteria use an array of mechanisms to by-pass the activities of antibiotics available to treat bacterial infections for example by mutations in their genome (Nikaido, 2009). By doing so, they acquire resistance to antibiotics and these genetic changes can be passed on to other bacteria. Traditionally, the search for antimicrobials were done by screening for natural compounds working against bacteria. In the search for novel antimicrobials, understanding the physiology of bacteria is becoming increasingly important, including how cell division in bacteria works. Knowledge on cell division will contribute to the design of novel synthetic compounds that target this vital bacterial process.

In this thesis, I have determined the minimal number of proteins the Gram-positive model organism *Bacillus subtilis* requires to form a FtsZ ring, which is the first major step in cell division. In addition, I have also investigated the interaction between the DNA translocase SftA and the conserved cell division protein SepF in *B. subtilis*. Finally, as a side project, I have investigated the molecular cues determining the localization of the chemoreceptor Tar in the Gram-negative model organism *E. coli*.

## Effect of divisome minimization on cell division

In vast majority of bacteria cell division is orchestrated by the conserved tubulin homologue FtsZ that polymerizes into a ring like structure (Z-ring) at the cell division site (Bi and Lutkenhaus, 1991; RayChaudhuri and Park, 1992; de Boer *et al.*, 1992; Mukherjee *et al.*, 1993). A multitude of mostly conserved proteins, including ZapA, MinC, UgtP, MinJ, EzrA, ClpX, Noc, FtsA and SepF, regulate Z-ring formation in *B. subtilis* (Blaauwen *et al.*, 2017). In chapter 2, I show that SepF and FtsZ are sufficient in *B. subtilis* to form a divisome complex capable of driving cell division. Previous *in vitro* data showed that FtsZ carrying a membrane anchor was able to constrict laminar liposomes (Osawa *et al.*, 2008). Our work is the first study to show in *in vivo* that FtsZ together with a membrane anchor (SepF) is sufficient to form an active Z-ring.

However, the accumulation of multiple deletions in cell division genes did cause a strong effect on cell length and growth. Not surprisingly, whole genome sequencing revealed (potential suppression) mutations in many genes unknown to affect cell division (Table 1 Chapter 2). Further characterization of these genes showed that deletion of the branched chain amino acid transporter BraB produces smaller cells that are resilient to lower levels of FtsZ. How a *braB* deletion affects cell division is unclear. Fluorescence light microscopy studies suggested that such mutation affects the cell membrane and it appeared that the cell membrane in  $\Delta braB$  cells are more fluid. Previous studies have suggested a relation between DNA replication, cell division and membrane synthesis (Jacob *et al.*, 1966) and key enzymes from each of these

processes are tethered to the cell membrane. Therefore, it is plausible that changing the membrane fluidity might affect their interactions with the membrane and thus their activities.

### **The importance of the SepF-SftA interaction**

After DNA replication, segregation of the newly synthesized chromosomes into the daughter cells must be completed before they are separated by the new division septum. It is assumed that the conserved DNA-translocase SftA is responsible for the transportation of genomic DNA away from a closing septum. In chapter 3, I describe the biological importance of the interaction between the conserved cell division protein SepF and SftA. Our data suggest that SftA is recruited early to cell division sites and that SepF supports this localization. In turn, SftA impedes the polymerization of SepF and thus affects cell division. Together, our genetic and biochemical data presented in chapter 3 support a model in which SftA delays the closure of the FtsZ ring in favor of chromosome segregation and decatenation.

### **Cell division as cue for chemoreceptor sorting**

A quarter of a century ago, work from the group of Lucy Shapiro reported that chemoreceptors in *E. coli* cluster at the cell poles. Since then, many models have been proposed to explain how these chemoreceptors end up there. These models include stochastic nucleation, membrane curvature driven localization, recruitment by the trans-enveloped protein complex Tol-Pal and nucleoid occlusion (Thiem *et al.*, 2007;

Thiem and Sourjik, 2008; Greenfield *et al.*, 2009; Santos *et al.*, 2014). In the final experimental part of my thesis (chapter 4), I have revisited the chemoreceptors localization conundrum. A key notion in the Shapiro study was that the majority of non-polar chemoreceptor clusters were enriched at midcell, signifying that cell division might be important for polar accumulation. Based on this, and recent findings from our lab in *B. subtilis* (Strahl *et al.*, 2015), our working hypothesis was that membrane curvature generated during cell division at midcell attracts chemoreceptors. Localization of *E. coli* chemoreceptor Tar throughout the cell cycle revealed that it accumulates at midcell well after the divisome has been formed. Indeed, blocking cell division abolished this midcell localization. However, Tar remained polar in the resulting filamentous cells, and this localization was not related to the nucleoid as proposed by the nucleoid occlusion model (Neeli-Venkata *et al.*, 2016).

Based on previous work, we tested the role of the cell division related Tol-Pal complex, and confirmed that chemoreceptors lose polar localization upon inactivation of this complex. However, the absence of the Tol-Pal complex also did not affect midcell localization of Tar, suggesting that another mechanism is responsible for this localization. Chemoreceptors form tripod-like structures that strongly bend the cell membrane. We introduced mutations in Tar that abolish their trimerization or rendered them flexible, which prevents their membrane bending properties. Indeed, these mutants were no longer able to cluster at cell division sites and cell poles. Thus, chemoreceptors like Tar, require the curvature generated during cell division to localize at

midcell, and the Tol-Pal complex is subsequently required to maintain the Tar clusters at the new cell poles formed after cell division is completed.

## **Future work**

### **The minimal *Bacillus* divisome**

In Chapter 2, I have shown that FtsZ and SepF are sufficient to form a functional Z-ring capable of recruiting the late cell division proteins required for the synthesis of the division septum. Of course, other, unknown, proteins might still be necessary. To find these, an *in vivo* crosslinking approach, using either FtsZ or SepF as bait proteins expressed, in the minimal divisome strain BMD27 could be used.

An interesting aspect of the making of strain BMD27 was that the removal of cell division related genes affected overall growth. This is surprising since it is assumed that cell division does not affect exponential growth since rod-shaped cells like *B. subtilis* and *E. coli* grow by lateral cell wall synthesis, resulting in an exponential increase in cell length that is independent of cell division (Westfall and Levin, 2017). To find how cell division affects overall growth, a (transposon) mutagenesis study could be used to find mutants that stimulate growth of strain BMD27. This can reveal regulatory links between cell division and growth-related processes in *B. subtilis*.

One of the key findings was the discovery that removal of the branched chain amino acid transporter BraB stimulates cell division and

increases the overall membrane fluidity. We speculated that these phenotypes are related, but this needs to be further investigated. In the *braB* mutant, the cell membrane contains more iso (less fluid) fatty acids, more unsaturated and more short-chain (more fluid) fatty acids causing overall increased membrane fluidity. Mimicking this change in membrane fluidity by genetically blocking the branched chain fatty acids synthesis pathway (Dhali *et al.*, 2017), and feeding the mutant different types of branched chain fatty acid precursors, followed by measuring the effect on resistance to FtsZ targeting drugs, could be a first step to test whether membrane fluidity affects cell division.

### **Direct relation between chromosome decatenation and cell division**

In Chapter 3 I describe the interaction between the important cell division protein SepF and the FtsK homologue SftA. Based on our data, we speculate that SepF aids in recruiting SftA to cell division site, where SftA delays Z-ring formation to provide time for sister chromosomes decatenation and segregation. The question remains whether SftA binds to specific DNA sequences and activates topoisomerases to decatenate chromosomes, like FtsK does. To gain more information on this, pulldown experiments with SftA to identify its interacting partners, and Chip-seq to identify SftA binding sites on the genome, could be a starting point. Finally, another key question that needs to be addressed is how exactly SftA is recruited to the Z-ring. We have shown that SepF supports this, but this protein is not essential for midcell localization of SftA.



## Literature cited

Bi, E., and Lutkenhaus, J. (1991) FtsZ ring structure associated with division in *Escherichia coli*. *Nature* **354**: 161–164.

Blaauwen, den, T., Hamoen, L.W., and Levin, P.A. (2017) The divisome at 25: the road ahead. *Current Opinion in Microbiology* **36**: 85–94.

de Boer, P., Crossley, R., and Rothfield, L. (1992) The essential bacterial cell-division protein FtsZ is a GTPase. *Nature* **359**: 254–256.

Dhali, D., Coutte, F., Arias, A.A., Auger, S., Bidnenko, V., Chataigné, G., *et al.* (2017) Genetic engineering of the branched fatty acid metabolic pathway of *Bacillus subtilis* for the overproduction of surfactin C14 isoform. *Biotechnol J* **12**.

ECDC (2016) *European Surveillance of Healthcare-associated Infections in Intensive Care Units*.

Greenfield, D., McEvoy, A.L., Shroff, H., Crooks, G.E., Wingreen, N.S., Betzig, E., and Liphardt, J. (2009) Self-organization of the *Escherichia coli* chemotaxis network imaged with super-resolution light microscopy. *PLOS Biol* **7**: e1000137.

Jacob, F., Ryter, A., and Cuzin, F. (1966) On the association between DNA and membrane in bacteria. *Proc R Soc Lond, B, Biol Sci* **164**: 267–278.

Mukherjee, A., Dai, K., and Lutkenhaus, J. (1993) *Escherichia coli* cell division protein FtsZ is a guanine nucleotide binding protein. *Proc Natl Acad Sci USA* **90**: 1053–1057.

Neeli-Venkata, R., Startceva, S., Annala, T., and Ribeiro, A.S. (2016) Polar Localization of the Serine Chemoreceptor of *Escherichia coli* Is Nucleoid Exclusion-Dependent. *Biophysical Journal* **111**: 2512–2522.

Nikaido, H. (2009) *Multidrug resistance in bacteria*.

Osawa, M., Anderson, D.E., and Erickson, H.P. (2008) Reconstitution of contractile FtsZ rings in liposomes. *Science* **320**: 792–794.

RayChaudhuri, D., and Park, J.T. (1992) *Escherichia coli* cell-division gene *ftsZ* encodes a novel GTP-binding protein. *Nature* **359**: 251–254.

Santos, T.M.A., Lin, T.-Y., Rajendran, M., Anderson, S.M., and Weibel, D.B. (2014) Polar localization of *Escherichia coli* chemoreceptors requires an intact Tol-Pal complex. *Mol Microbiol* **92**: 985–1004.

Strahl, H., Ronneau, S., González, B.S., Klutsch, D., Schaffner-Barbero, C., and Hamoen, L.W. (2015) Transmembrane protein sorting driven by membrane curvature. *Nat Commun* **6**: 8728.

Thiem, S., and Sourjik, V. (2008) Stochastic assembly of chemoreceptor clusters in *Escherichia coli*. *Mol Microbiol* **68**: 1228–1236.

Thiem, S., Kentner, D., and Sourjik, V. (2007) Positioning of chemosensory clusters in *E. coli* and its relation to cell division. *EMBO J* **26**: 1615–1623.

Westfall, C.S., and Levin, P.A. (2017) Bacterial Cell Size: Multifactorial and Multifaceted. In *Annual Review of Microbiology*. pp. 499–517.



## Nederlandse samenvatting

### Het minimalistische divisoom onthult de kracht van de celdelingsmachine

In dit promotieonderzoek heb ik gekeken naar de minimale eiwitten die noodzakelijk zijn om de celdelingsmachine van *Bacillus subtilis* te vormen. Ook heb ik gekeken naar de interactie tussen een DNA translocase en het belangrijke celdelingseiwit SepF. En tot slot onderzocht ik de mechanismen die de chemereceptor Tar in de bacterie *Escherichia coli* naar de cel polen lokaliseren. Ik gebruikte voor mijn onderzoek verschillende microbiologische en biochemische technieken zoals genetica, genomsequencing, microscopie, eiwit lokalisatie, en eiwit interactiemethode.

Celdeling in de meeste bacteriën zoals in bijvoorbeeld *B. subtilis* en *E. coli* wordt uitgevoerd door tientallen eiwitten die gezamenlijk het divisoom genoemd worden. De tubuline homologe FtsZ is het meest essentiële eiwit van het divisoom. FtsZ polymeriseert zich tot FtsZ polymeren waarna deze FtsZ polymeren zich bundelen in een kop-start oriëntatie tot een ringvormige structuur genaamd de Z-ring (Bi and Lutkenhaus, 1991; RayChaudhuri and Park, 1992; de Boer *et al.*, 1992; Mukherjee *et al.*, 1993; Ma *et al.*, 1996). Het geconserveerde eiwit ZapA dient als bindmiddel om de FtsZ polymeren in de Z-ring bij elkaar te houden (Gueiros-Filho and Losick, 2002). De belangrijke membraaneiwitten SepF en FtsA dienen als een membraan ankers voor

de Z-ring in het midden van de cel alwaar de nieuwe scheidingswand gevormd zal worden (Feucht *et al.*, 2001; Duman *et al.*, 2013). Een ander belangrijk membraan eiwit EzrA reguleert de vorming van de Z-ring, alhoewel, men niet precies weet wat de functie van dit eiwit is (Levin *et al.*, 1999; Cleverley *et al.*, 2014). De twee systemen nucleoid occlusie (Noc) en Min zorgen door een negatieve werking op FtsZ polymerisatie ervoor dat de Z-ring alleen in het midden van de cel gevormd wordt. Het Noc systeem bestaat uit het eiwit Noc dat zowel aan het membraan als het DNA bindt en het DNA naar de membraan rekruteert (Wu and Jeff Errington, 2004; Adams *et al.*, 2015). Het eiwit Noc blokkeert de formatie van de Z-ring over het nucleoid heen. Het Min systeem bestaat uit de FtsZ remmer MinC, het adapter eiwit MinD, het transmembraan eiwit MinJ en het krommingsgevoelig eiwit DivIVA. DivIVA is in staat de kromming van de nieuwe scheidingswand te herkennen en MinJ naar deze locatie te rekruteren (Edwards and J Errington, 1997; Marston *et al.*, 1998; Bramkamp *et al.*, 2008; Patrick and Kearns, 2008). Vervolgens rekruteert MinJ het eiwit MinD alwaar het dient als een adapter voor MinC (Marston *et al.*, 1998). Het DivIVA-MinJ-MinCD eiwitcomplex remt de vorming van nieuwe Z-ring bij de kromming van de scheidingswand en na de celdeling zorgt dit complex voor de destabilisatie van de Z-ring. De vorming van de Z-ring is via het metabole enzym UgtP gelinkt aan de beschikbaarheid van voedingsstoffen (Weart *et al.*, 2007).

Na de vorming van de Z-ring wordt er een nieuwe groep essentiële eiwitten de zogenaamde late celdelingseiwitten gerekruteerd door de Z-ring om de nieuwe delingswand te synthetiseren en te vormen.

Het is bekend dat van de tientallen eiwitten betrokken bij de vorming van de Z-ring alleen FtsZ essentieel is. De minimale vereiste eiwitten om de Z-ring te vormen voor celdeling is tot nu toe niet bekend. In **hoofdstuk 2** heb ik laten zien dat voor *B. subtilis* de eiwitten FtsZ en SepF voldoende zijn om een functionele Z-ring te vormen. Verder, laat dit onderzoek zien dat het achtereenvolgend verwijderen van de genen *zapA*, *minC*, *ugtP*, *minJ*, *ezrA*, *spxA*, *clpX*, *noc*, *ezrA* en *ftsA* de letaliteit van *noc* en *ezrA*, *sepF* en *ezrA*, *clpX* en *minC*, *zapA* en *ezrA*, *ezrA* en *minC*, en *minC* en *noc* wegneemt (Levin *et al.*, 1999; Gueiros-Filho and Losick, 2002; Wu and Jeff Errington, 2004; Hamoen *et al.*, 2006; Camberg *et al.*, 2011). Het analyseren van het genoom van alle opeenvolgende bacteriestammen laat zien dat er na elke gen verwijdering er mutaties plaatsvinden in het genoom van de resulterende bacteriestam. Een zo'n mutatie kwam voor in het gen *braB* dat codeert voor het enzym BraB dat vertakte aminozuur transporteert (Belitsky, 2015). Vervolg analyse van de deletie mutant van *braB* liet een relatie zien tussen celdeling en membraanlipide. Opvallend is, dat onderzoek van tientallen jaren geleden al speculeerden dat er mogelijk een ingewikkelde relatie tussen membraanlipide, celdeling, DNA-replicatie en membraan synthese zou moeten bestaan (Jacob *et al.*, 1966).

Voor dat celdeling plaats kan vinden, moet het gedupliceerde DNA van de bacterie gesegregeerd en geplaatst in beide helften van de cel. Er zijn speciale eiwitten die deze functies uitvoeren. Het meest bestudeerde variant van zulke eiwitten is FtsK van *E. coli*. FtsK is een essentieel eiwit: het eiwit is belangrijk om de eiwitten ParC en XerD te

activeren die de laatste stap van DNA-segregatie voltooien en FtsK is ook belangrijk voor hiërarchische rekrutering van de eiwitten FtsQ, FtsI en FtsL naar het divisoom (Yu *et al.*, 1998; Wang and Lutkenhaus, 1998; Chen and Beckwith, 2001). In *B. subtilis* zijn er twee homologen van FtsK namelijk SpoIIIE en SftA (Biller and Burkholder, 2009; Kaimer *et al.*, 2009). SpoIIIE is vooral actief tijdens de sporenvorming om het DNA in de spoor te pompen terwijl SftA is exclusief actief tijdens de vegetatieve groei (Wu and Jeffery Errington, 1994; Bath, 2000; Biller and Burkholder, 2009; Kaimer *et al.*, 2009). In **hoofdstuk 3** heb ik de interactie tussen SftA en het belangrijke celdelingseiwit SepF bestudeerd. Hier liet ik zien dat SftA door het divisoom naar de nieuwe delingswand wordt gerekruteerd en niet de late celdelingseiwitten zoals eerder werd besproken en dat SepF dit stimuleert (Biller and Burkholder, 2009). Ik liet ook *in vitro* zien dat bij de aanwezigheid van overvloedige SftA SepF niet meer instaat is om de karakteristieke SepF ringen te vormen (Gündoğdu *et al.*, 2011). Eerder onderzoek van ons lab liet zien dat cellen waar het eiwit SepF niet tot expressie is gebracht er problemen ontstaat met de (groeierende) delingswand en dat dit fenotype in een *ezrA* deletie mutant verergerd is (Hamoen *et al.*, 2006). Inderdaad, wanneer ik SftA in overvloed tot expressie breng in een *ezrA* deletie mutant er cel filamenten gevormd worden die uiteindelijk doodgaan. Ik gebruikte fluorescentie microscopie in combinatie met de eiwitten SepF, FtsA en PbpB gefuseerd aan een fluorescent eiwit om het effect van de extra SftA op de lokalisatie van het divisoom en de late celdelingseiwitten te bestuderen. Hieruit blijkt dat vooral de lokalisatie van SepF het meest beïnvloed wordt. Dit resultaat

versterkt de eerdere suggestie dat SftA de functie van SepF kan beïnvloeden. En de lokalisatie van het late celdelingseiwit PbpB wordt ook verhinderd. Dit is in lijn met een eerdere publicatie (Hamoen *et al.*, 2006). Ik vond verder dat in een *sftA* deletie er meer Z-ringen gevormd worden over het nucleoïd. Het feit dat SftA ook zou kunnen dienen als een DNA-pomp is gebaseerd op homologie van de sequentie met FtsK (Biller and Burkholder, 2009; Kaimer *et al.*, 2009). Gebaseerd op onze resultaten en de beschikbare literatuur is het zeer waarschijnlijk dat SftA niet als een pomp dient, maar eerder het divisoom remt om het segregatie proces van het gedupliceerde chromosoom voldoende tijd te gunnen.

Tenslotte herzag ik in **hoofdstuk 4** hoe de clusters van chemoreceptor Tar naar de cel polen in *E. coli* lokaliseren. Chemoreceptoren zijn eiwitten die veranderingen in het milieu kunnen waarnemen en deze veranderingen naar cellulaire processen in de cel vertalen. Een chemoreceptor cluster bestaat uit een transmembraan receptor, een histidine kinase CheA, de eiwitten CheW, -Y, -B en -R. Ongeveer 25 jaar geleden liet men zien met immunolabeling microscopie met goudendeeltjes dat chemoreceptor clusters van Tar zowel lateraal als in de cel polen lokaliseren (Maddock and Shapiro, 1993). Sindsdien zijn er talloze mechanismen voor deze lokalisatie patroon beschreven. Deze mechanismen omvatten de stochastische nucleatie, nucleoïd oclusie, membraankromming gedreven lokalisatie, en rekrutering door het transmembraan eiwitcomplex Tol-Pal (Thiem *et al.*, 2007; Thiem and Sourjik, 2008; Greenfield *et al.*, 2009; Santos *et al.*, 2014). Een belangrijke



opmerking in het werk van de groep Lucy Shapiro was dat een groot deel van de laterale chemoreceptor clusters zich bevonden in de kromming van de delende celwand. Dit duidt aan dat celdeling van belang zou kunnen zijn voor de lokalisatie in de cel polen. Dit idee werd nog eens versterkt door een recente bevinding van ons laboratorium dat in *B. subtilis* celdeling belangrijk is voor de polaire lokalisatie van soortgelijke chemoreceptor clusters (Strahl *et al.*, 2015). Om te kijken of dit ook voor *E. coli* geldt, liet ik eerst zien dat de lokalisatie van Tar in het midden van de cel de lokalisatie van het divisome achtervolgt en dat deze patroon van lokalisatie divisoom afhankelijk is. Het remmen van de celdeling leidde tot langere cellen met normale nucleoïd distributie en polaire clusters van Tar. Dit toont aan dat nucleoïd occlusie niet de drijvende kracht is voor de polaire lokalisatie van Tar zoals eerder werd besproken (Neeli-Venkata *et al.*, 2016). Verder liet ik ook zien dat in een deletie mutant van de celdeling gerelateerde Tol-Pal complex dat de polaire lokalisatie maar niet de lokalisatie in de kromming van de celwand van Tar is verstoord. Chemoreceptoren vormen een driepoot achtige structuur die de lokalisatie naar de kromming van de celmembraan bevordert. Ik bracht mutaties aan in de aminozuur sequentie van Tar die deze driepotige structuur verstoren en liet zien dat deze gemuteerde eiwitten niet meer instaat zijn naar het midden van de cel en de cel polen te lokaliseren. Samen laten al deze resultaten zien dat de kromming die ontstaat al gevolg van celdeling in het midden van de cel van groot belang is voor de lokalisatie van chemoreceptoren in het midden van de cel. En vervolgens is de celdeling gerelateerde Tol-Pal complex van

eminent belang voor het behoud van de polaire lokalisatie van de chemoreceptoren na de celdeling.

## Literatuurlijst

Adams, D.W., Wu, L.J., and Errington, J. (2015) Nucleoid occlusion protein Noc recruits DNA to the bacterial cell membrane. *EMBO J* **34**: 491–501.

Bath, J. (2000) Role of *Bacillus subtilis* SpoIIIE in DNA Transport Across the Mother Cell-Prespore Division Septum. *Science* **290**: 995–997.

Belitsky, B.R. (2015) Role of branched-chain amino acid transport in *Bacillus subtilis* CodY activity. *Journal of Bacteriology* **197**: 1330–1338.

Bi, E., and Lutkenhaus, J. (1991) FtsZ ring structure associated with division in *Escherichia coli*. *Nature* **354**: 161–164.

Biller, S.J., and Burkholder, W.F. (2009) The *Bacillus subtilis* SftA (YtpS) and SpoIIIE DNA translocases play distinct roles in growing cells to ensure faithful chromosome partitioning. *Mol Microbiol* **74**: 790–809.

Bramkamp, M., Emmins, R., Weston, L., Donovan, C., Daniel, R.A., and Errington, J. (2008) A novel component of the division-site selection system of *Bacillus subtilis* and a new mode of action for the division inhibitor MinCD. *Mol Microbiol* **70**: 1556–1569 <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1365-2958.2008.06501.x>.

Camberg, J.L., Hoskins, J.R., and Wickner, S. (2011) The interplay of ClpXP with the cell division machinery in *Escherichia coli*. *Journal of Bacteriology* **193**: 1911–1918 <http://jb.asm.org/cgi/doi/10.1128/JB.01317-10>.

Chen, J.C., and Beckwith, J. (2001) FtsQ, FtsL and FtsI require FtsK, but not FtsN, for co-localization with FtsZ during *Escherichia coli* cell division. *Mol Microbiol* **42**: 395–413.

Cleverley, R.M., Barrett, J.R., Baslé, A., Bui, N.K., Hewitt, L., Solovyova, A., *et al.* (2014) Structure and function of a spectrin-like regulator of bacterial cytokinesis. *Nat Commun* **5**: 5421.

de Boer, P., Crossley, R., and Rothfield, L. (1992) The essential bacterial cell-division protein FtsZ is a GTPase. *Nature* **359**: 254–256.

Duman, R., Ishikawa, S., Celik, I., Strahl, H., Ogasawara, N., Troc, P., *et al.* (2013) Structural and genetic analyses reveal the protein SepF as a new membrane anchor for the Z ring. *Proc Natl Acad Sci USA* **110**: E4601–10.

Edwards, D.H., and Errington, J. (1997) The *Bacillus subtilis* DivIVA protein targets to the division septum and controls the site specificity of cell division. *Mol Microbiol* **24**: 905–915.

- Feucht, A., Lucet, I., Yudkin, M.D., and Errington, J. (2001) Cytological and biochemical characterization of the FtsA cell division protein of *Bacillus subtilis*. *Mol Microbiol* **40**: 115–125.
- Greenfield, D., McEvoy, A.L., Shroff, H., Crooks, G.E., Wingreen, N.S., Betzig, E., and Liphardt, J. (2009) Self-organization of the *Escherichia coli* chemotaxis network imaged with super-resolution light microscopy. *PLOS Biol* **7**: e1000137.
- Gueiros-Filho, F.J., and Losick, R. (2002) A widely conserved bacterial cell division protein that promotes assembly of the tubulin-like protein FtsZ. *Genes Dev* **16**: 2544–2556.
- Gündoğdu, M.E., Kawai, Y., Pavlendova, N., Ogasawara, N., Errington, J., Scheffers, D.-J., and Hamoen, L.W. (2011) Large ring polymers align FtsZ polymers for normal septum formation. *EMBO J* **30**: 617–626.
- Hamoen, L.W., Meile, J.-C., de Jong, W., Noirot, P., and Errington, J. (2006) SepF, a novel FtsZ-interacting protein required for a late step in cell division. *Mol Microbiol* **59**: 989–999.
- Jacob, F., Ryter, A., and Cuzin, F. (1966) On the association between DNA and membrane in bacteria. *Proc R Soc Lond, B, Biol Sci* **164**: 267–278.
- Kaimer, C., González-Pastor, J.E., and Graumann, P.L. (2009) SpoIIIE and a novel type of DNA translocase, SftA, couple chromosome segregation with cell division in *Bacillus subtilis*. *Mol Microbiol* **74**: 810–825.
- Levin, P.A., Kurtser, I.G., and Grossman, A.D. (1999) Identification and characterization of a negative regulator of FtsZ ring formation in *Bacillus subtilis*. *Proc Natl Acad Sci USA* **96**: 9642–9647.
- Ma, X., Ehrhardt, D.W., and Margolin, W. (1996) Colocalization of cell division proteins FtsZ and FtsA to cytoskeletal structures in living *Escherichia coli* cells by using green fluorescent protein. *Proc Natl Acad Sci USA* **93**: 12998–13003.
- Maddock, and Shapiro, L. (1993) Polar location of the chemoreceptor complex in the *Escherichia coli* cell. *Science* **259**: 1717–1723.
- Marston, A.L., Thomaidis, H.B., Edwards, D.H., Sharpe, M.E., and Errington, J. (1998) Polar localization of the MinD protein of *Bacillus subtilis* and its role in selection of the mid-cell division site. *Genes Dev* **12**: 3419–3430  
<https://www.scopus.com/inward/record.uri?partnerID=HzOxMe3b&scp=0032213104&origin=inward>.
- Mukherjee, A., Dai, K., and Lutkenhaus, J. (1993) *Escherichia coli* cell division protein FtsZ is a guanine nucleotide binding protein. *Proc Natl Acad Sci USA* **90**: 1053–1057.

- Neeli-Venkata, R., Startceva, S., Annala, T., and Ribeiro, A.S. (2016) Polar Localization of the Serine Chemoreceptor of *Escherichia coli* Is Nucleoid Exclusion-Dependent. *Biophysical Journal* **111**: 2512–2522.
- Patrick, J.E., and Kearns, D.B. (2008) MinJ (YvjD) is a topological determinant of cell division in *Bacillus subtilis*. *Mol Microbiol* **70**: 1166–1179.
- RayChaudhuri, D., and Park, J.T. (1992) *Escherichia coli* cell-division gene *ftsZ* encodes a novel GTP-binding protein. *Nature* **359**: 251–254.
- Santos, T.M.A., Lin, T.-Y., Rajendran, M., Anderson, S.M., and Weibel, D.B. (2014) Polar localization of *Escherichia coli* chemoreceptors requires an intact Tol-Pal complex. *Mol Microbiol* **92**: 985–1004.
- Strahl, H., Ronneau, S., González, B.S., Klutsch, D., Schaffner-Barbero, C., and Hamoen, L.W. (2015) Transmembrane protein sorting driven by membrane curvature. *Nat Commun* **6**: 8728.
- Thiem, S., and Sourjik, V. (2008) Stochastic assembly of chemoreceptor clusters in *Escherichia coli*. *Mol Microbiol* **68**: 1228–1236.
- Thiem, S., Kentner, D., and Sourjik, V. (2007) Positioning of chemosensory clusters in *E. coli* and its relation to cell division. *EMBO J* **26**: 1615–1623.
- Wang, L., and Lutkenhaus, J. (1998) FtsK is an essential cell division protein that is localized to the septum and induced as part of the SOS response. *Mol Microbiol* **29**: 731–740.
- Weart, R.B., Lee, A.H., Chien, A.-C., Haeusser, D.P., Hill, N.S., and Levin, P.A. (2007) A Metabolic Sensor Governing Cell Size in Bacteria. *Cell* **130**: 335–347.
- Wu, L.J., and Errington, Jeff (2004) Coordination of cell division and chromosome segregation by a nucleoid occlusion protein in *Bacillus subtilis*. *Cell* **117**: 915–925.
- Wu, L.J., and Errington, Jeffery (1994) *Bacillus subtilis* SpoIIIE protein required for DNA segregation during asymmetric cell division. *Science* **264**: 572–575.
- Yu, X.-C., Tran, A.H., Sun, Q., and Margolin, W. (1998) Localization of cell division protein FtsK to the *Escherichia coli* septum and identification of a potential N-Terminal targeting domain. *Journal of Bacteriology* **180**: 1296–1304.