

La sécrétion chez les bactéries

Rôle dans la colonisation et la pathogénicité

Les différentes étapes dans l'interaction bactérie-hôte:

- Transport vers l'hôte
- Adhérence et colonisation de l'hôte
- Croissance, Multiplication dans l'hôte
- Détournement du système immunitaire de l'hôte
- Capacité de nuire à l'hôte

Nombre de protéines (enzymes, toxines...) sécrétées interviennent dans l'ensemble de ces processus et agissent à l'extérieur ou à l'intérieur de la cellule cible (animale ou végétale)

La sécrétion chez les bactéries

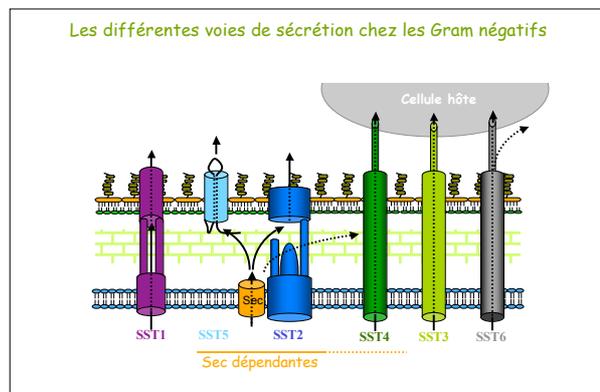
Dégradation d'exopolymères	Colonisation/ Dégradation des tissus	Survie dans l'hôte
<p><i>Erwinia chrysanthemi</i> Pathogène de plantes</p> <ul style="list-style-type: none"> • 8 endo-pectate lyases • Exo-pectate lyase • Pectine acétyl estérase • Exo-polygalacturonase • 2 cellulases • Endo-xylanase • 2 Pectine méthyl estérases • Phospholipase • 4 protéases 	<p><i>Pseudomonas aeruginosa</i> Pathogène opportuniste humain</p> <p>Toxines</p> <p>Enzymes</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Exotoxine A • Exoenzymes S, T, U, Y • Elastase • Protéase alcaline • Protéase LasA • 3 Phospholipases • 3 phosphatases alcalines • Lipase • Neuraminidase • Protéine de liaison à la chitine

Quels sont les mécanismes moléculaires mis en jeu ?

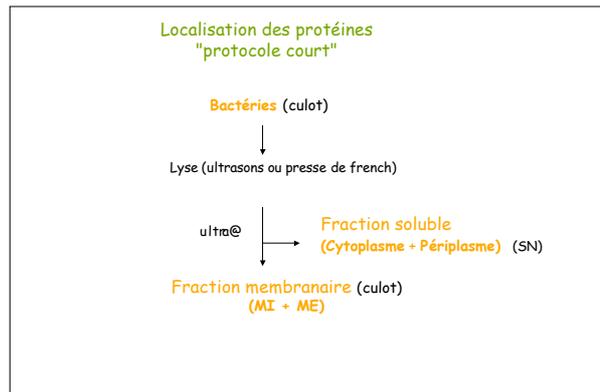
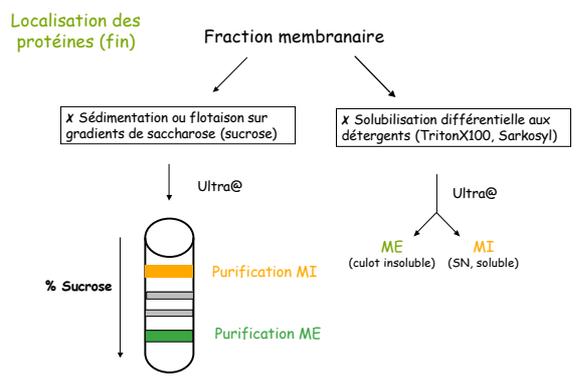
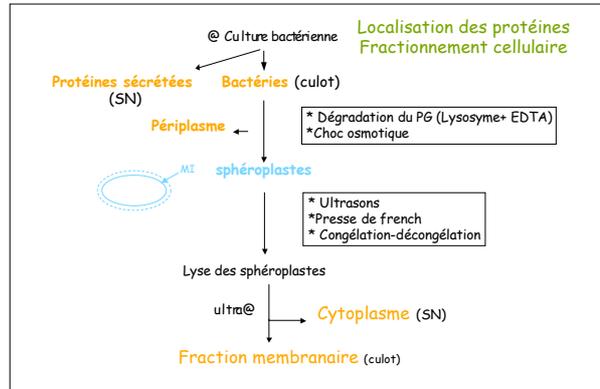
Une bactérie, un mécanisme de sécrétion?

OU

Des mécanismes de sécrétion conservés au sein des bactéries?



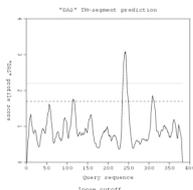
Les machineries de sécrétion sont des complexes de protéines membranaires
 --> technologies communes à leur étude



Etude de la topologie de protéines MI

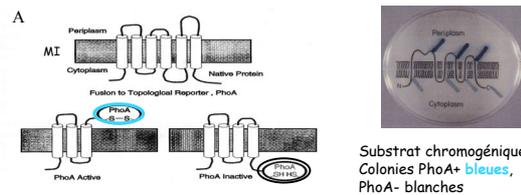
1^{ère} étape Etude de la topologie *in silico*
 --> **prédictions** (segments certains et putatifs)

analyse hydrophobicité (détermination segments transmembranaires -hélice α - de longueur suffisante -20aa-) et répartition des charges (positive inside rule) -orientation-



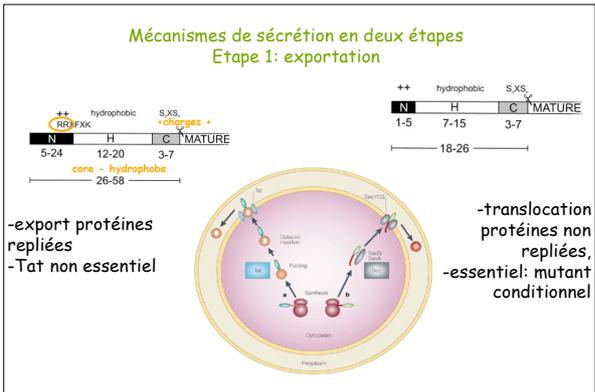
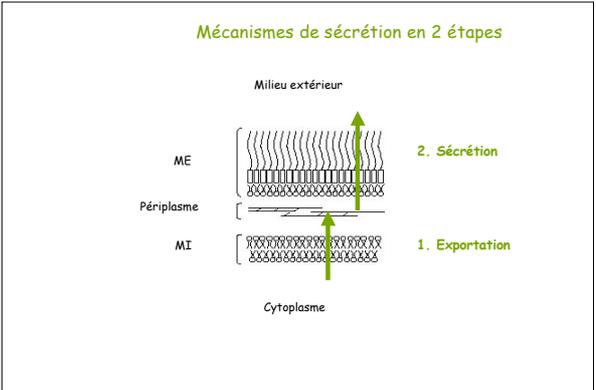
Etude de la topologie de protéines MI

2^{ème} étape Confirmation *in vivo*: Fusions traductionnelles à différents endroits de la protéine étudiée (= x hybrides)
phoA (activité périplasmique, oxydation S-S), *bla* (activité périplasmique, substrat = AB interférant synthèse PG), *gfp* (fluorescence cytoplasmique)



Etude de la topologie de protéines ME

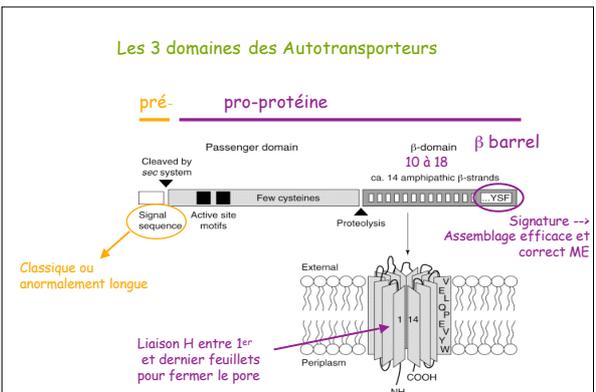
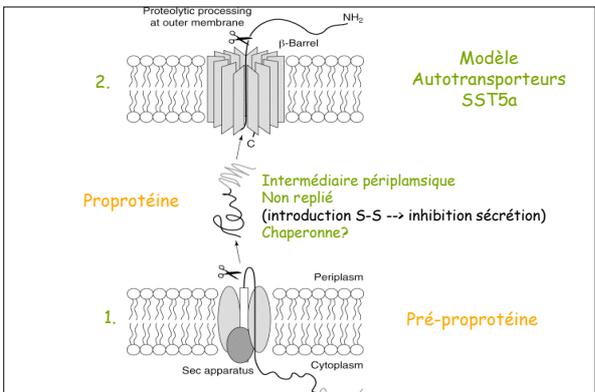
insertion épitopes --> accessibilité ou non des Ac sur cellules entières



Sécrétion de type V

X SST5a. Autotransporteurs: 1 protéine contient toutes les informations nécessaires à la translocation MI puis ME
Découvert avec les IgA protéases de *Neisseria gonorrhoeae*

X SST5b. Two-partner secretion (TPS): 1 protéine sécrétée utilise 1 protéine accessoire pour translocation ME



Domaine β des Autotransporteurs

Structure of the translocator domain of a bacterial autotransporter

NalP de *Neisseria meningitidis*

Formation d'un pore en bicouche lipidique plane

Domaine passager des Autotransporteurs

Unknown function	Adhesins	Proteases	Toxins	Invasins	Mediators of motility	Serum resistance
EspC	AIDA-1	Ssp	VacA	Hap	IcsA	BtkA
SspA	Tsh	Ssp-h1	Pet	-	-	-
Hia	TefA	Ssp-h2	-	-	-	-
rOmpA	Agf3	EspP	-	-	-	-
rOmpB	Hap	PsaA	-	-	-	-
Slp1	Hst	IgA1 proteases	-	-	-	-
Hsr	Pertactins	-	-	-	-	-
-	UspA1	-	-	-	-	-

-motif RGD --> attachement aux cellules animales via les intégrines de la membrane plasmique
Ex Pertactines de *Bordetella pertussis*

-SPATE (serine protease autotransporters of *Enterobacteriaceae*) consensus GDSGSP chez Pet, Tsh, EspP, EspC d'*E. coli*, ShMu et SepA de *Shigella*
Site actif nécessaire fonction Ex Esp des ETHEC --> clivage facteur de coagulation X
Mais aussi pour sécrétion
--> associé à la virulence

Maturation (Processing)

X pas de clivage --> le domaine passager est exposé à la surface
ex Hsr d'*Helicobacter mustelae*

X autoprotéolyse --> site actif Ser protéase
ex IgA protéases, SPATE

Hap d'*Haemophilus influenzae*
Western blot anti Hap
Hendrixson et al., Mol Mic (97)

2: souche WT
3 et 4: mutants S243T(A)

X clivage par une protéase de ME
ex IcsA de *Shigella* clivée par SopA

Two-partner secretion (SST5b)

X 1 protéine sécrétée et 1 auxiliaire

X Signal de sécrétion après SS --> association avec protéine ME

X topologie domaine β différente

X adhésines ou cytolysines
Ex FhaB *B. pertussis*

Mécanismes de sécrétion en 2 étapes

Milieu extérieur

ME

Périplasm

MI

Cytoplasme

2. Sécrétion

1. Exportation

Mécanismes de sécrétion en 2 étapes et Sec-dépendants Voie de Type II ou General Secretory Pathway (GSP)

X Découverte simultanément chez *Klebsiella oxytoca* et *Pseudomonas aeruginosa*

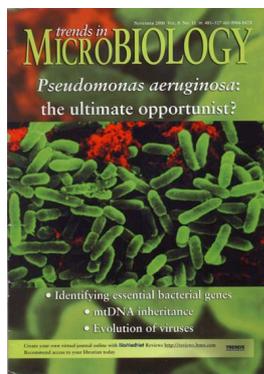
K. oxytoca
15 gènes pul

Nécessaires à la sécrétion de la pullulanase

P. aeruginosa
12 gènes xcp

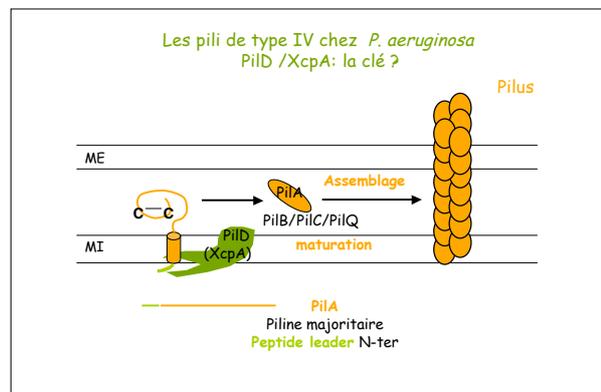
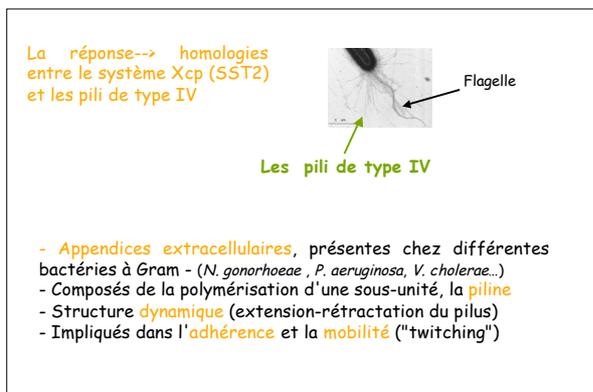
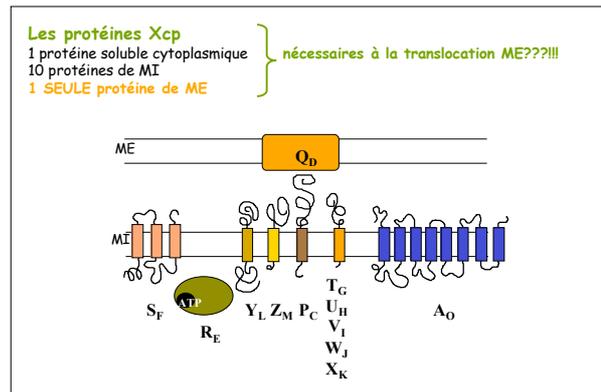
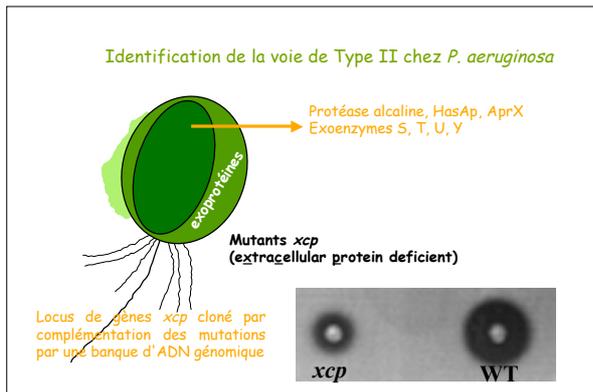
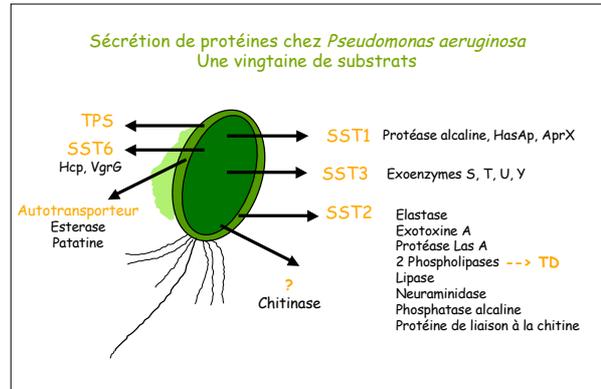
Nécessaires à la sécrétion de l'élastase

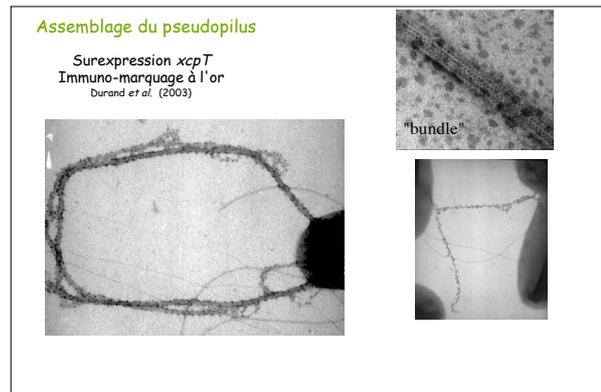
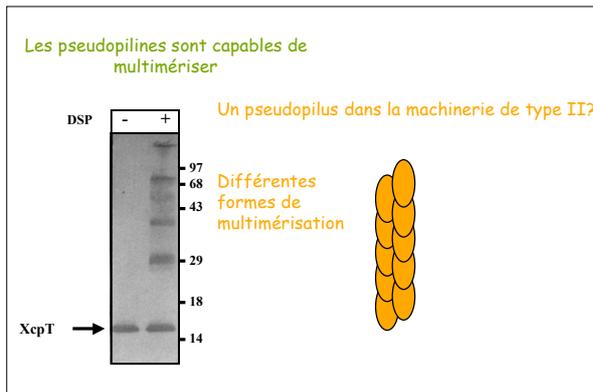
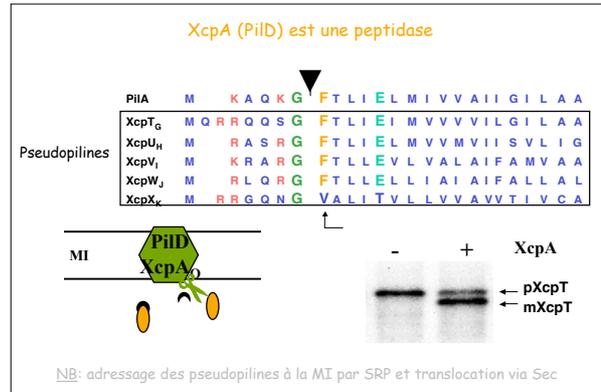
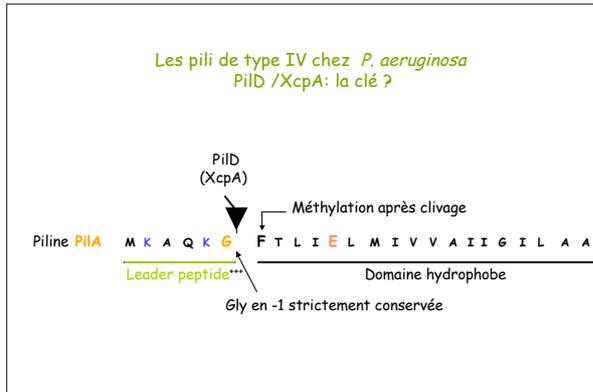
X Présent chez *Erwinia chrysantemi*, *E. carotovora*, *Vibrio cholerae*, *P. putida*, *Aeromonas hydrophila*...



X Bacille Gram -
 X Ubiquitaire:
 - Sol, eau
 - infecte plantes, insectes, nématodes, mammifères, humains

X Opportuniste
 --> Infections nosocomiales
 - Urgences, Grands Brûlés, NéoNat
 - Patients immunodéprimés
 --> Infections pulmonaires chroniques chez patients atteints de mucoviscidose
 X Séquence du génome connue





La suite?

Au prochain cours!!