

Vie bactérienne communautaire (1), on se compte et on s'adapte: le Quorum Sensing

Philippe Sansonetti

Leçon # 3

Mode de communication entre cellules bactériennes

Une façon pour les bactéries d'établir un lien social
et d'agir comme un être multicellulaire.



Ng WL & Bassler BL. 2009. Annu.Rev.Genet., Aug 17
Camilli A & Bassler BL.2006. Science, 311:1113-1116

Laurence Caron, Foule Bleue, Paris

Le Quorum Sensing concerne les bactéries à Gram + et à Gram -

Il lie à la densité bactérienne l'expression de gènes spécifiques de fonctions essentielles dans l'environnement où s'effectue la croissance (Henke JM, Bassler BL.2004. Trends Cell Biol., 14:648-656; Reading NC, Sperandio V. 2006. FEMS Microbiol.Lett., 254:1-11)).

Environnement → commensalisme → pathogénicité

Processus génétiques fondamentaux: conjugaison, replication.

Synthèse d'exoenzymes.

« Swarming ».

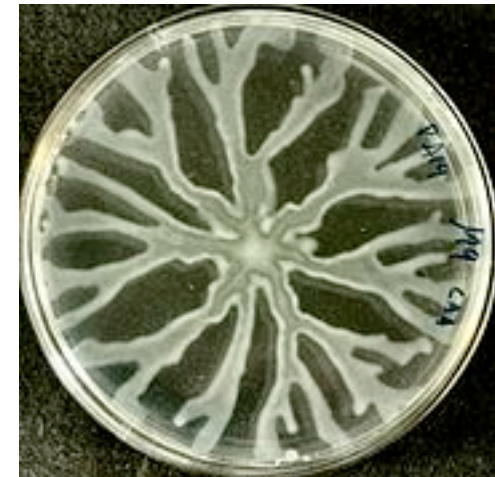
Production de facteurs de virulence
(pathogènes animaux et phytopathogènes).

Production de biofilms.

Production d'antibiotiques et expression de facteurs de résistance aux antibiotiques.

Sporulation.

Bioluminescence.



**Notion d'autoinducteurs
= hormones bactériennes**

Historique:

La notion d'**autoinducteurs** (petites molécules diffusibles induisant en fonction de leur concentration qui reflète la concentration bactérienne l'expression de certains gènes) a été introduite par Kaplan et Greenberg en 1985 dans le modèle de régulation de la luminescence chez *Vibrio fischeri*

(Kaplan HB & Greenberg EP. 1985. J.Bacteriol., 163:1210-1214)

Ce modèle de régulation a maintenant été étendu à une centaine d'espèces bactériennes, même des Archaea.

Quorum Sensing: terme introduit par Fuqua & Winans en 1994 devant la découverte d'un système régulateur de type LuxR-LuxI contrôlant le transfert conjugatif du plasmide Ti chez *Agrobacterium* en présence d'un métabolite produit par la tumeur de la plante cible.

(Fuqua WC & Winans SC. 1994. J.Bacteriol., 176:2796-2806)

Il est très vite apparu qu'il existait deux grandes familles d'autoinducteurs: dérivés de petits peptides pour les bactéries à Gram + et dérivés d'acides gras pour les bactéries à Gram -

Bactéries à Gram - soumises au QS: *Agrobacterium*, *Brucella*, *Burkholderia*, *Erwinia*, *Escherichia*, *Enterobacter*, *Pseudomonas*, *Ralstonia*, *Serratia*, *Vibrio*, *Yersinia* (Parker CT & Sperandio V. 2009. Cell.Microbiol., 11:363-369).

Bactéries à Gram + soumises au QS: *Bacillus*; *Enterococcus*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Streptomyces* (Podbielski A, Kreikemeyer B. 2004. Int.J.Infect.Dis., 8:81-95)

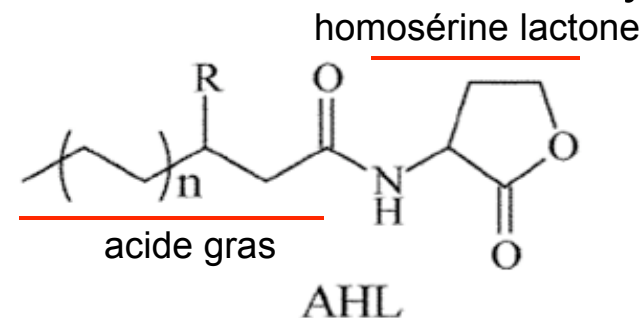
Quorum Sensing: Définition

Le Quorum Sensing (QS) est un mode de signalisation bactérien qui repose sur la production de petites molécules médiatrices appelées « autoinducteurs » qui sont produites en phase de croissance bactérienne.

Lorsqu'un seuil de concentration est atteint, ces autoinducteurs interagissent avec un régulateur transcriptionnel, permettant l'expression spécifique, en réponse à une forte concentration de cet autoinducteur, d'un groupe de gènes.

L'un des autoinducteurs intra-espèce le plus étudié est le N-acyl-homosérine lactone (AHL).

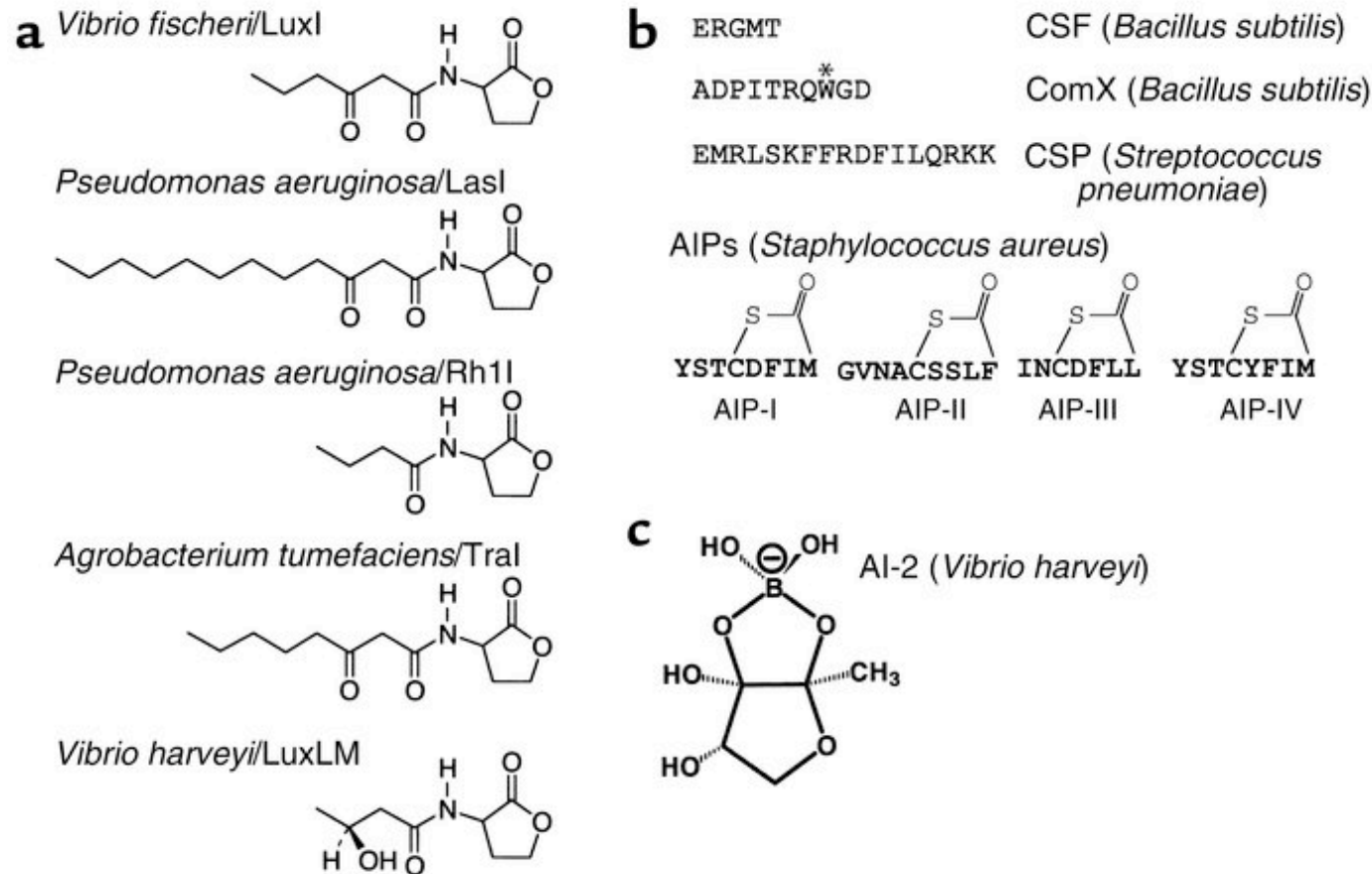
Variation dans la longueur des acide gras, de l'état d'oxydation et de la nature du substituant R = H, O, OH



Les déterminants génétiques du QS sont organisés en un réseau régulateur complexe incluant la cascade du QS et un spectre de régulateurs transcriptionnels et post-transcriptionnels qui affectent la synthèse de l'autoinducteur AHL.

Des facteurs autres que la densité bactérienne affectent la production et l'accumulation d'AHL.

Structure d'autoinducteurs de bactéries modèles dans l'étude du Quorum Sensing



a - Autoinducteurs AHL chez de nombreuses bactéries à Gram -

b - Sélection d'autoinducteurs de bactéries à Gram + (AIP). L'astérisque au dessus du tryptophane (W) de ComX indique une modification post-traductionnelle (isoprénylation du peptide). Les AIPs de *Staphylococcus aureus* sont représentées avec un pont thioester reliant les aa indiqués.

c - AI-2 de *Vibrio harveyi*. diester de borate furanosylé

Schéma général du mécanisme commun du Quorum Sensing chez les bactéries à Gram -

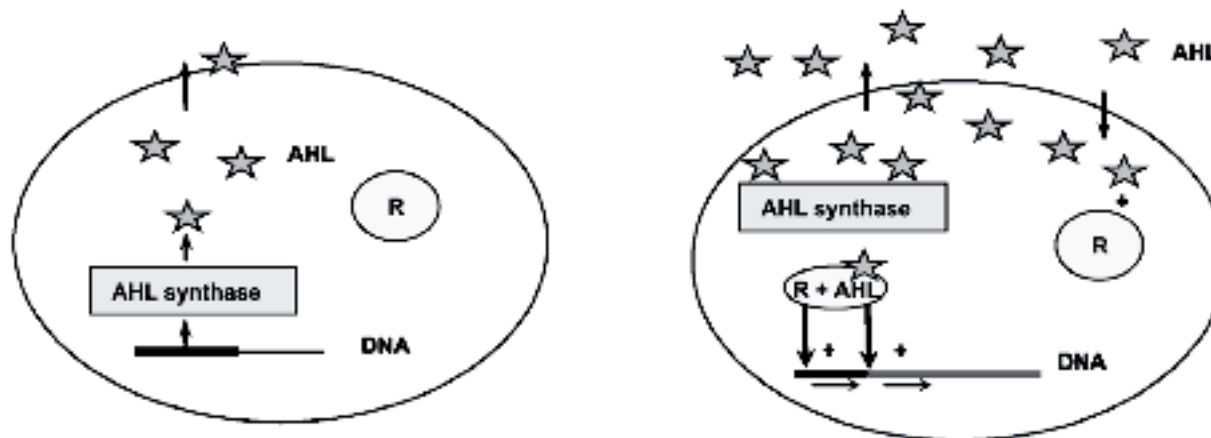
Les bactéries produisent un autoinducteur, AHL, via une AHL-synthase.

A faible densité, les molécules d'AHL sont activement transportées du milieu extérieur vers le cytoplasme par un processus de transport dépendant de l'ATP.

A forte concentration, le transport s'effectue par diffusion passive.

Lorsque la concentration d'AHL atteint un seuil (Quorum State), les molécules autoinductrices d'AHL interagissent avec la protéine régulatrice R, le plus souvent un régulateur transcriptionnel.

Le complexe R-AHL se lie au promoteur des gènes cibles et initie leur transcription ainsi couplée à la densité bactérienne.



Faible densité

Forte densité

La communication inter-bactérienne ne survient pas qu'à forte densité de population.

En fait, le terme de Quorum Sensing est maintenant utilisé de manière générique pour qualifier tout processus de communication impliquant des molécules diffusibles produites constitutivement par la bactérie.

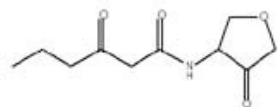
Un mécanisme de QS dépendant d'AHL a été décrit pour la première fois chez le vibrion marin *Vibrio fischeri* où il contrôle la bioluminescence en fonction de la densité de la population bactérienne (Nealson KH et coll. 1970. J.Bacteriol., 104:313-322). Le paradigme du QS au niveau moléculaire implique l'activité coopérative de deux composants:

- **LuxI**, une AHL synthase (ou un homologue de LuxI dans d'autres systèmes) responsable de la synthèse constitutive de l'autoinducteur (Fuqua C & Winans SC. 1996. Mol.Microbiol., 20:1199-1210).
- **LuxR**, une protéine régulatrice (ou un homologue de LuxR dans d'autres systèmes), qui après association à AHL subit une modification de structure tridimensionnelle permettant son association à des séquences spécifiques sur l'ADN bactérien qui assure la transcription des gènes cibles de la régulation = opéron lux, dont *luxA* qui code pour la luciférase (Hanzelka et Greenberg, 1995)

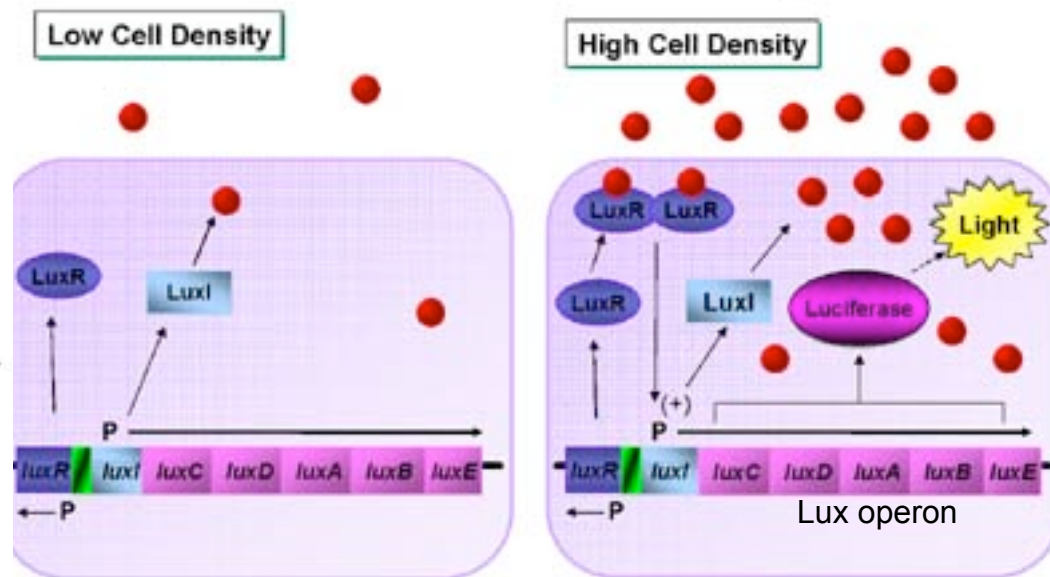
● AHL = autoinducteur



Quorum sensing was first discovered in the 1970s in the marine luminescent bacterium *Vibrio fischeri*, a facultative symbiont of marine animals (such as *Euprymna scolopes*)



3-Oxohehexanoyl homoserine lactone (3OC6HSL or AHL) is the acyl-homoserine lactone (AHL) produced by LuxI and recognized by LuxR in *Vibrio fischeri*



Première démonstration chez *V. fischeri* que S-adénosine méthionine est l'acide aminé qui sert de substrat à la synthèse de AHL.

Biosynthèse AHL = S-adénosylméthionine (SAM) + acyl-carrier protéine
(Hanzelka BL, Greenberg EP. 1995. J.Bacteriol., 178:5291-5294)

Le nombre important de systèmes régulés par le QS requiert une variété d'autoinducteurs.

Le même autoinducteur AHL peut réguler des systèmes différents dans des espèces différentes

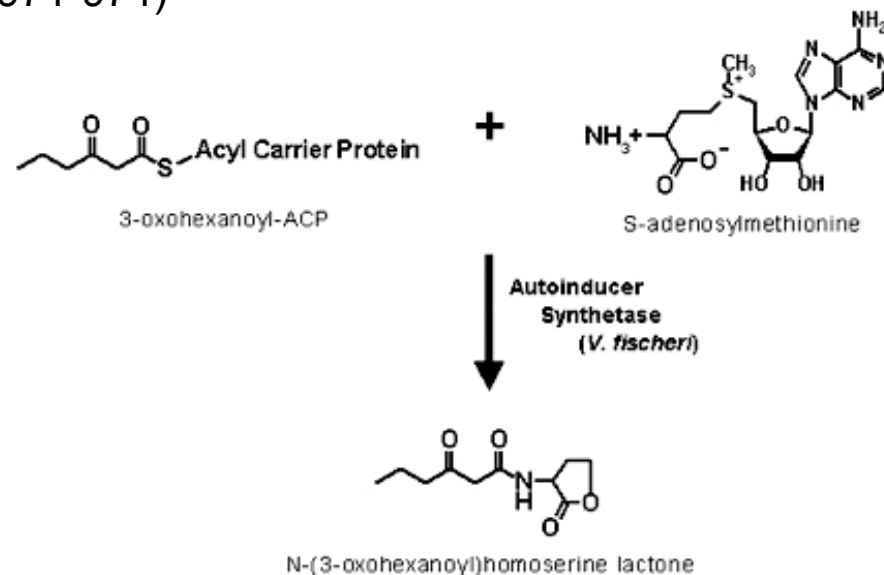
La même espèce bactérienne peut produire des autoinducteurs AHL différents, concourant à l'induction de systèmes différents.

Ces systèmes peuvent être couplés, voire hiérarchisés.

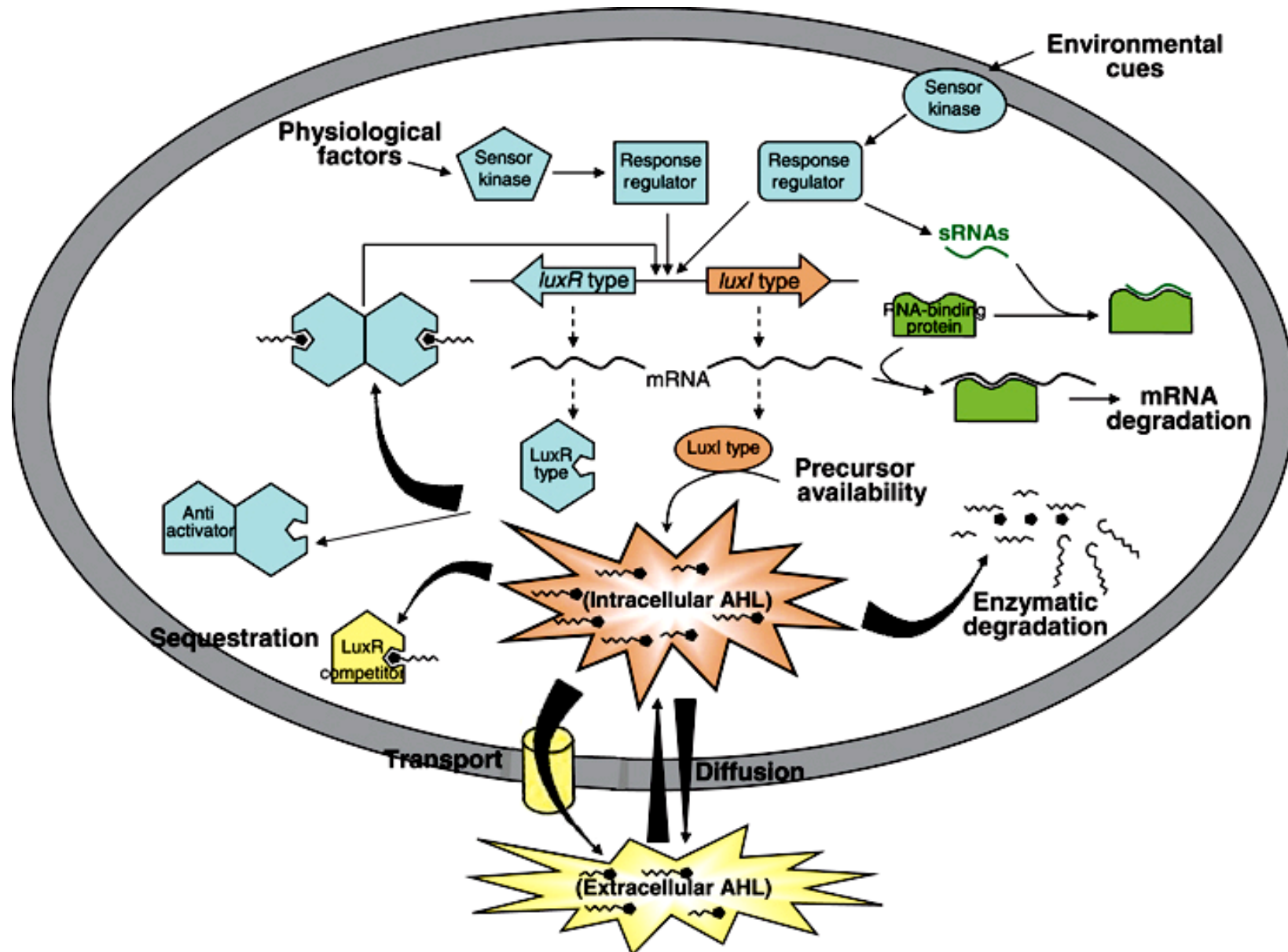
Les Acyl-Homosérine-Lactones (AHL) sont synthétisées à partir de la S-adénosyl-méthionine (SAM) et de molécules spécifiques porteuses d'acides gras (acyl-carriers) par des enzymes de type LuxI dont la spécificité décide de la longueur du résidu acyl (More MI et coll. 1996. Science, 272:1655-1658).

De nombreuses molécules d'AHL diffusent librement à travers la membrane bactérienne et sont détectées par les protéines de type LuxR. La liaison AHL-LuxR entraîne une modification conformationnelle permettant au complexe de se fixer sur l'ADN des promoteurs des gènes régulés par le QS (Fuqua M et coll. 2001. Annu.Rev.Genet., 35:439-461).

La spécificité de la liaison AHL-LuxR est assurée par l'existence dans LuxR d'une poche accommodant le résidu acyl en fonction de sa taille (Zhang RG et coll. 2002. Nature, 417:971-974)



Régulation de la synthèse et de l'accumulation des molécules d'autoinducteur AHL dans la bactérie

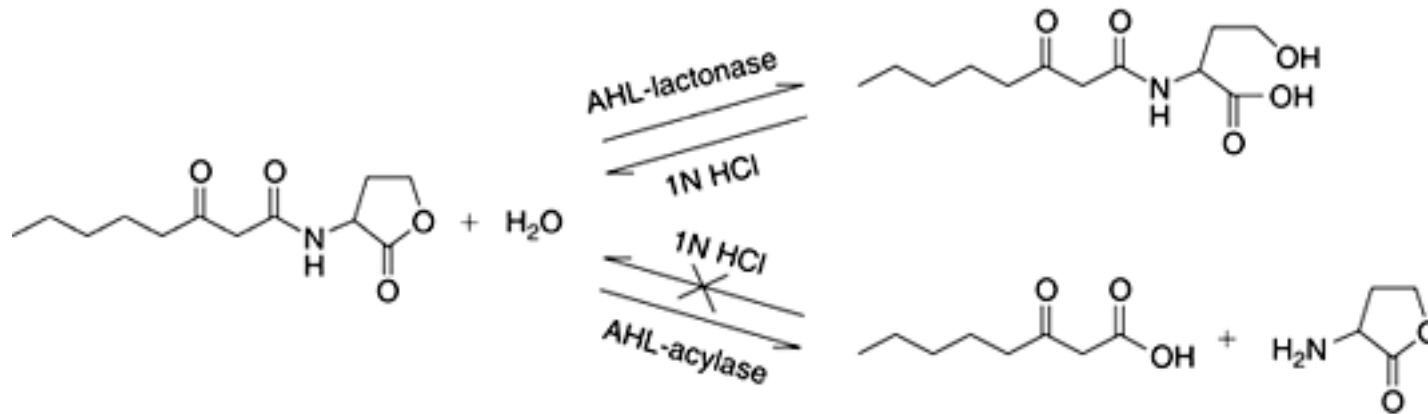


Exemples de systèmes régulateurs I/R

Organism	I/R genes	AHLs synthesized	QS-regulated phenotypes
<i>Vibrio fischeri</i>	<i>luxR, luxI</i> <i>ainS</i>	3O-C6-HSL C8-HSL	Bioluminescence Colonization factors
<i>Pantoea stewartii</i>	<i>esaR, esaI</i>	3O-C6-HSL	Exopolysaccharide production
<i>Agrobacterium tumefaciens</i>	<i>traR, tral,</i> <i>trIR (traS)</i>	3O-C8-HSL	Virulence plasmid copy number and conjugal transfer
<i>Erwinia carotovora</i> subsp. <i>carotovora</i>	<i>carR, carI</i> (<i>expR, expI</i>)*	3O-C6-HSL	Production of carbapenem antibiotic and exoenzymes
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>lasR, lasI</i> <i>rhlR, rhlI</i> <i>qscR</i>	3O-C12-HSL C4-HSL	Virulence, biofilm formation, other cellular functions
<i>Rhizobium leguminosarum</i> biovar <i>viciae</i>	<i>rhiR, rhiI</i>	C6-HSL C7-HSL C8-HSL	Nodulation efficiency
	<i>raiR, raiI</i>	C6-HSL C7-HSL C8-HSL	Function unknown
	<i>bisR, traR, tral</i> <i>cinR, cinI</i>	3OH-C8-HSL 3OH-C8-HSL 3OH-C14:1-HSL	Plasmid transfer Growth inhibition

Quorum Quenching (QQ)

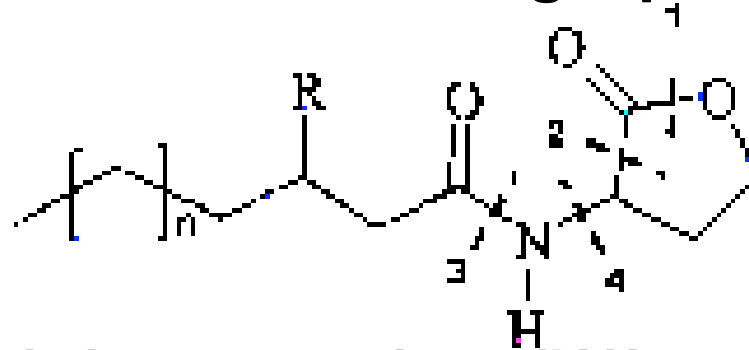
Chez les bactéries à Gram - le médiateur principal du QS, N-acyl-homoserine lactone (AHL) peut subir une dégradation enzymatique qui coupe le circuit de régulation et atténue ainsi le phénotype induit par le QS.



Deux catégories principales d'enzymes inactivent AHL:

- 1 - AHL lactonases qui hydrolysent le cycle lactone
- 2 - AHL acylases (AHL amidases) qui libèrent l'acyl de l'homosérine lactone.

Capacité de « Quorum Quenching » par hydrolyse d'AHL



Possibilités de dégradation enzymatique d'AHL par les bactéries.

(Revue dans: Czajkowski R & Jafra S. 2009. Acta Bioch. Pol., 56:1-16)

1: Lactonases (produits par de nombreuses espèces:

Bacillus, Arthrobacter, Agrobacterium, ...)

2: Décarboxylase ?

3: Acylases/amidases (clivage de la liaison amide,

Exprimés dans plusieurs espèces: *P.aeruginosa,*

Streptomyces, Acinetobacter, Vibrio)

4: Déaminase ?

Seuls des lactonases et amidases ont été identifiés

Rôle régulateur global de la sécrétion de ces enzymes dans l'environnement ?

Surtout le fait de bactéries vivant dans le sol

Des activités AHL lactonase a été identifiée chez les mammifères =

Paraoxonases (PON1-3), produites par exemple par l'épithélium respiratoire et hydrolysant les AHL de *P. aeruginosa* (Ozer EA et coll. 2005. FEMS Microbiol.Lett., 253:29-37)

Pseudomonas aeruginosa

- Pathogène opportuniste à Gram - (blessures, brûlures, mucoviscidose). Extrême adaptabilité à l'environnement.
- Cause des infections respiratoires, urinaires, cutanées, osseuses et articulaires
- Habitant naturel du sol, se développe à la surface des plantes et colonise volontiers les animaux. Très grande adaptabilité, versatilité métabolique.
- Environ 10% de son génome est dédié à des régulateurs, y compris un système complexe, multimodal de QS.

Organisme modèle disposant de multiple modules/signaux de QS

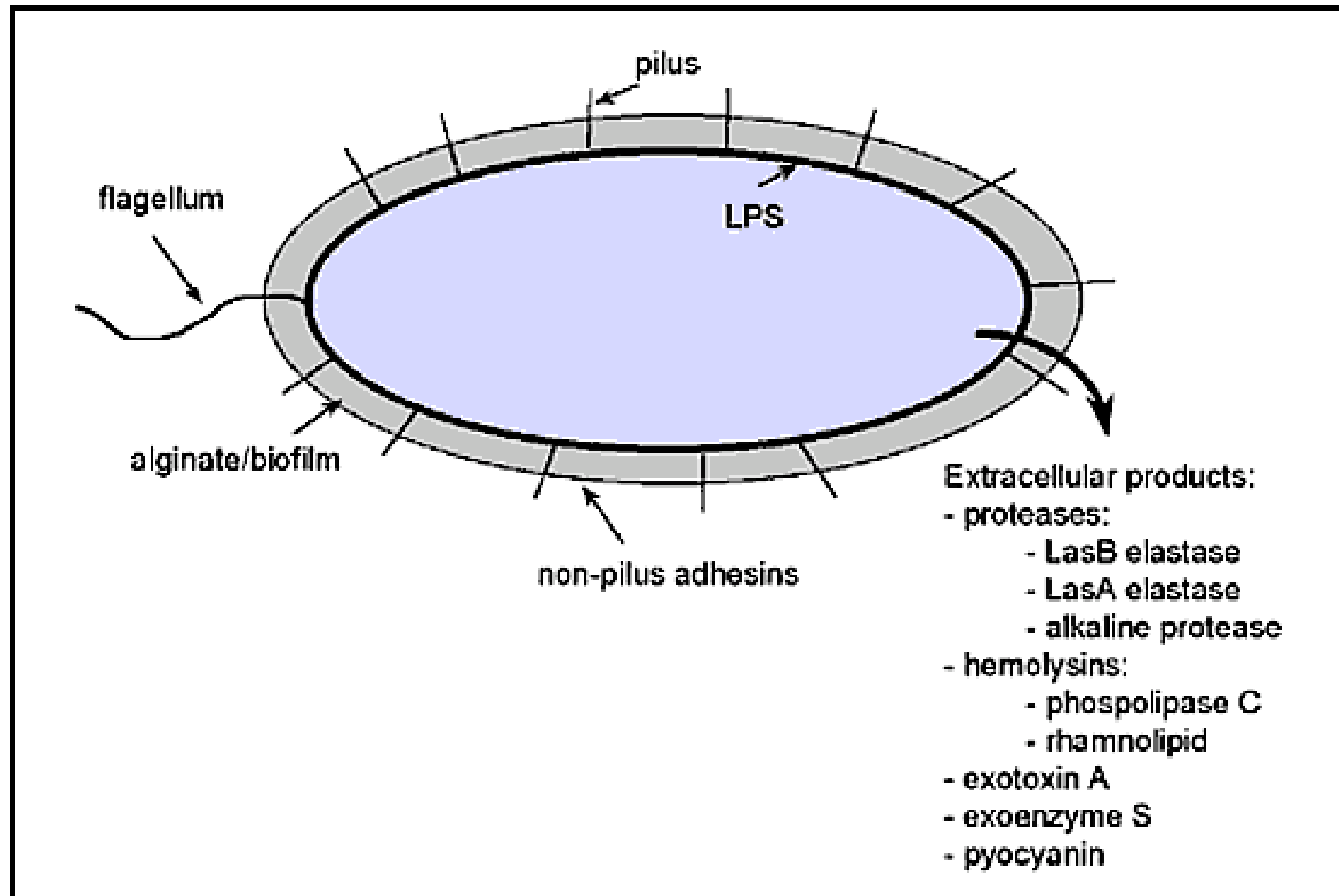


Pouvoir pathogène de *P. aeruginosa*

3 étapes

1. Colonisation (facteurs d'adhésion/formation de biofilm)
2. Invasion locale (production d'enzymes extracellulaires et de toxines)
3. Dissémination systémiques (bactériémies, septicémies, métastases septiques)

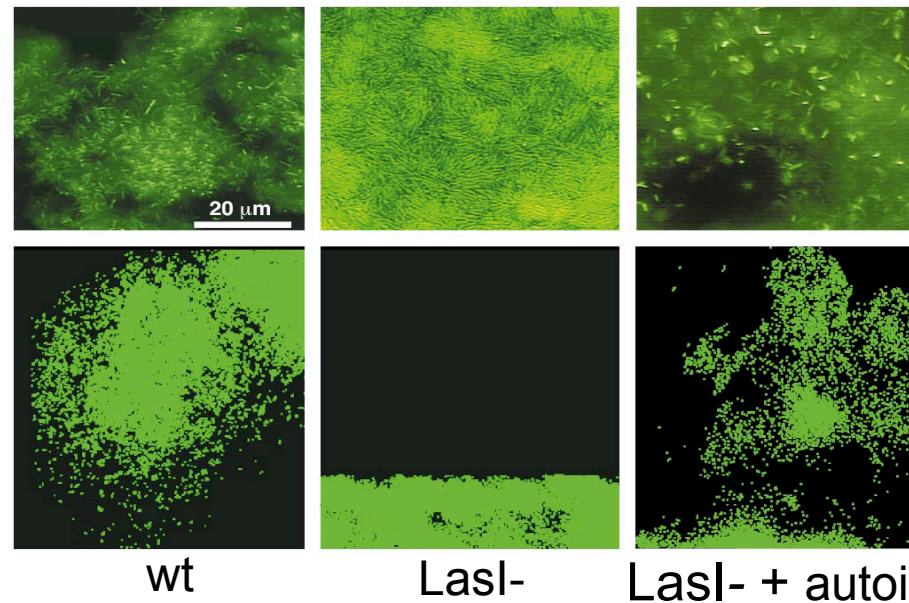
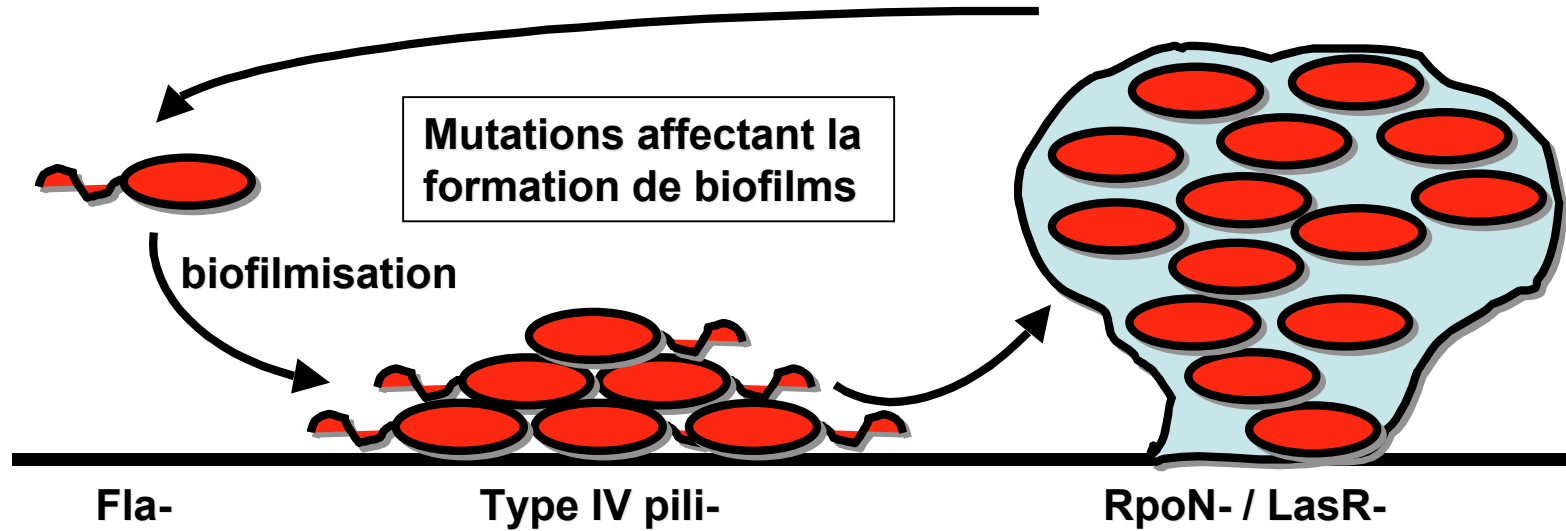
Facteurs de pathogénicité de *P. aeruginosa*



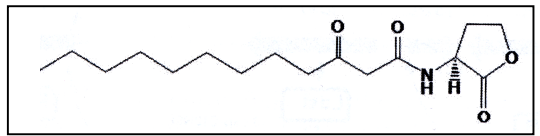
Différenciation d'un biofilm chez *Pseudomonas aeruginosa*

Implication des signaux intercellulaires du QS dans le développement de biofilms bactériens

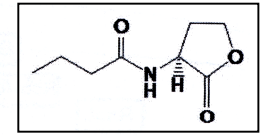
planctonisation Davies DG et coll. 1998. Science. 280:295-298



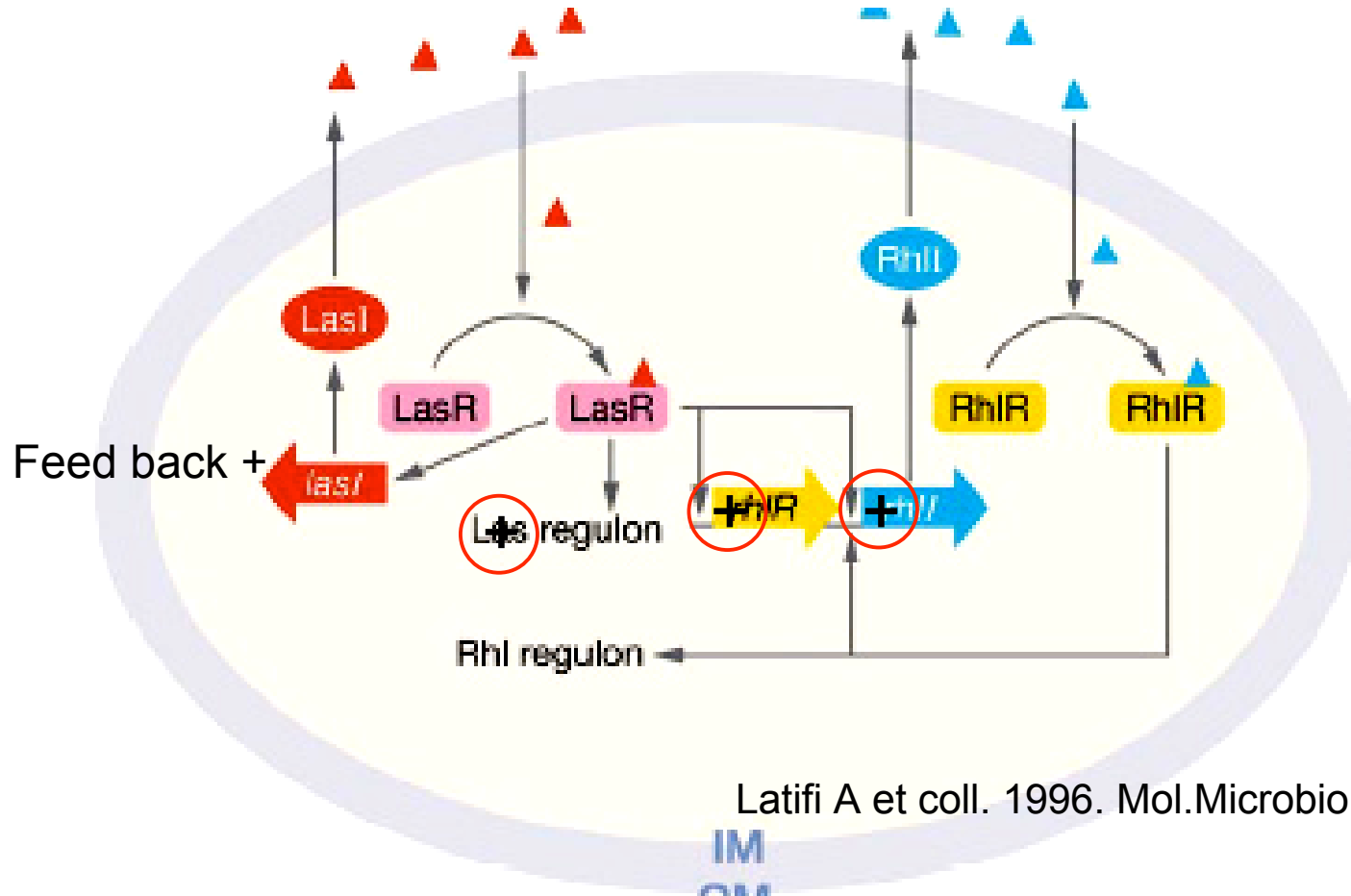
Quorum Sensing chez *Pseudomonas aeruginosa*



3-oxo-C12-HSL



C4-HSL



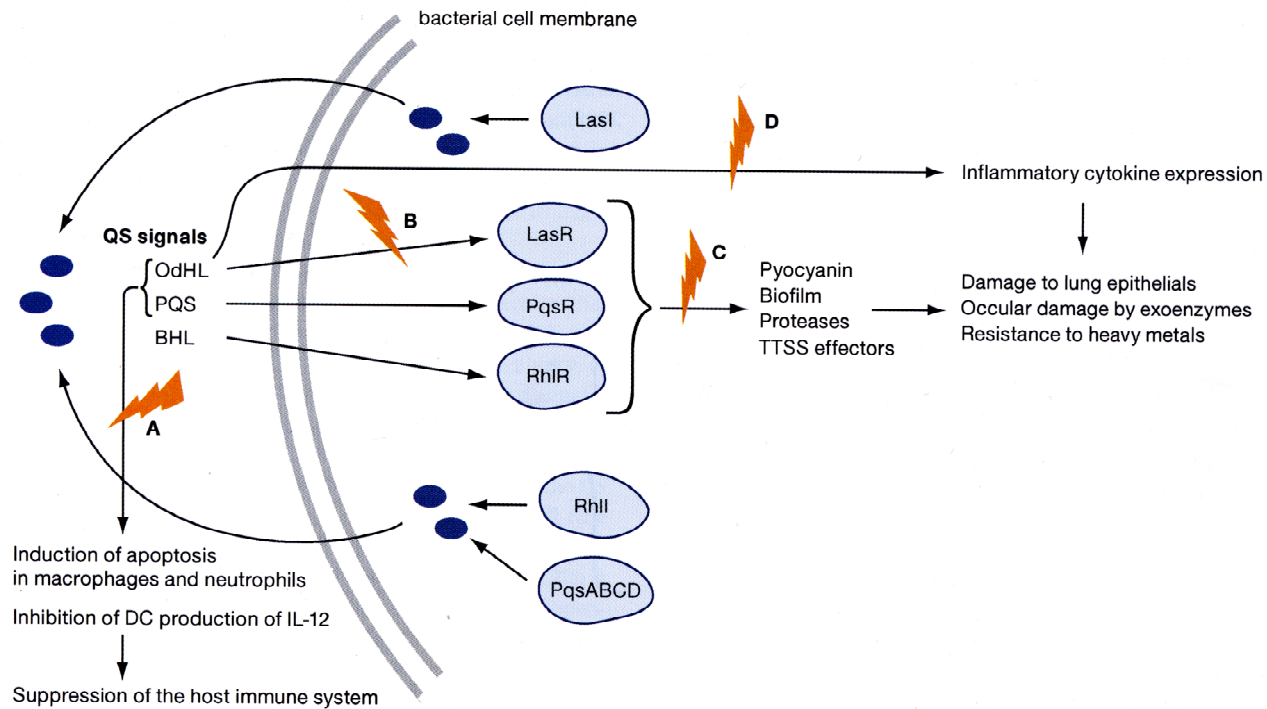
Latifi A et coll. 1996. Mol.Microbiol., 21:1137-1146

LasR & RhIR = Famille LuxR

Exemples de facteurs de virulence de *P.aeruginosa* régulés par le Quorum Sensing

Les systèmes *las* et *rhl* régulent à eux seuls environ 10% du génome de *P. aeruginosa* (Schuster M & Greenberg PE. 2006. Int.J.Med.Microbiol., 296:73-81)

Gene	Protein
Predominately <i>las</i> regulated	
<i>lasB</i>	Elastase
<i>toxA</i>	Exotoxin A
<i>aprA</i>	Alkaline protease
<i>rhlR</i>	RhlR
Predominantly <i>rhl</i> regulated	
<i>rhlAB</i>	Rhamnosyltransferase chain A, B
<i>lecA</i>	Pseudomonas type-I lectin
<i>lecB</i>	Pseudomonas type-II lectin
<i>hcnABC</i>	Hydrogen-cyanide synthase
<i>phzA1-G1, phzM, phzS</i>	Pyocyanin

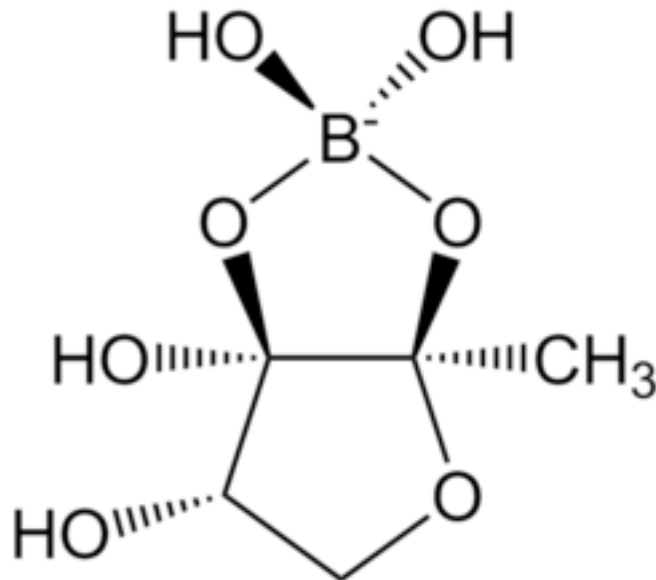


Relation entre virulence et Quorum Sensing chez *Pseudomonas aeruginosa*.

Des autoinducteurs plus génériques permettant le QS à l'échelle de populations bactériennes hétérogènes ?

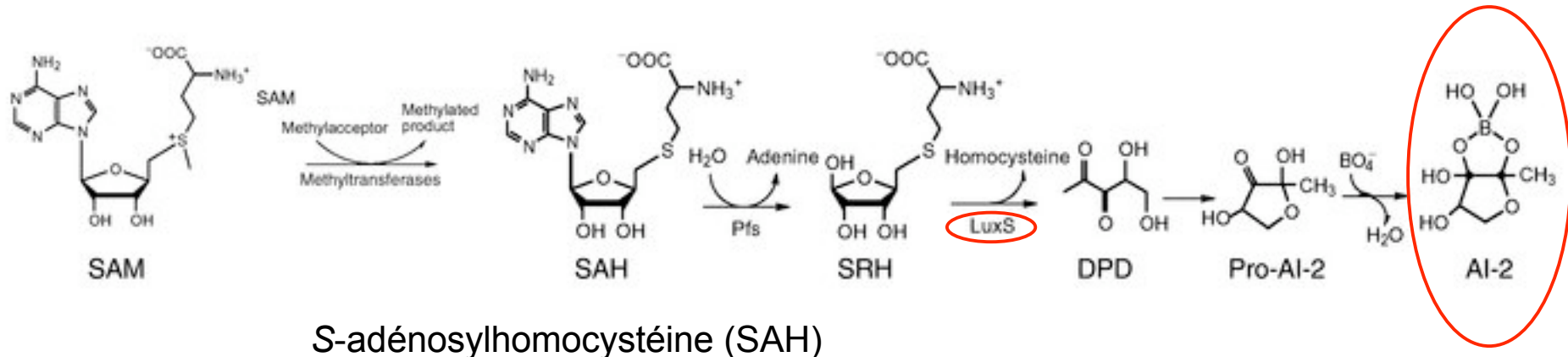
AI-2 est produit et détecté par une grande variété de bactéries et est considéré comme un autoinducteur capable de médier une communication inter-espèces, propriété vitale pour l'homéostasie des flores polymicrobiennes complexes (tractus intestinal...)

L'enzyme clé de la biosynthèse de AI-2 est **LuxS**



Biosynthèse de AI-2

S-adénylméthionine (SAM)



S-adénylhomocystéine (SAH)

L'utilisation de SAM comme donneur de méthyl produit la S-adénylhomocystéine (SAH). L'enzyme Pfs convertit SAH en S-ribosylhomocystéine (SRH). LuxS est responsable de la conversion de SRH en homocystéine et 4,5-dihydroxy-2-3-pentanedione) DPD. DPD se réarrange spontanément en plusieurs furanones ou proñAI-2. L'addition d'un Borate au proñAI-2 forme l'autoinducteur actif AI-2.

Bacteria that possess *luxS* genes

<i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i>	<i>Helicobacter pylori</i>	<i>Salmonella paratyphi</i>
<i>Bacillus anthracis</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Salmonella typhi</i>
<i>Bacillus cereus</i>	<i>Lactobacillus gasseri</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>
<i>Bacillus halodurans</i>	<i>Lactobacillus plantarum</i>	<i>Shigella flexneri</i>
<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Lactococcus lactis</i>	<i>Sinorhizobium meliloti</i>
<i>Bifidobacterium longum</i>	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Borrelia burgdorferi</i>	<i>Leuconostoc oenos</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
<i>Campylobacter jejuni</i>	<i>Listeria innocua</i>	<i>Streptococcus agalactiae</i>
<i>Clostridium acetobolyticum</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Streptococcus gordonii</i>
<i>Clostridium difficile</i>	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	<i>Streptococcus mutans</i>
<i>Clostridium perfringens</i>	<i>Neisseria meningitidis</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
<i>Deinococcus radiodurans</i>	<i>Oceanobacillus iheyensis</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i>
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Oenococcus oeni</i>	<i>Vibrio anguillarum</i>
<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Pasteurella multocida</i>	<i>Vibrio cholerae</i>
<i>Escherichia coli</i>	<i>Pasteurella multocida</i>	<i>Vibrio harveyi</i>
<i>Haemophilus ducreyi</i>	<i>Porphyromonas gingivalis</i>	<i>Vibrio parahemolyticus</i>
<i>Haemophilus influenzae</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	<i>Vibrio vulnificus</i>
<i>Haemophilus somnus</i>	<i>Salmonella enterica</i>	<i>Yersinia pestis</i>
<i>Helicobacter hepaticus</i>		

The BLAST search algorithm available on the National Center for Biotechnology Information website (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/>) was used to identify homologues of the *V. harveyi luxS* gene in bacterial species whose genomes have been sequenced. AI-2 production has been observed in many additional species whose genomes have not been sequenced, indicating that they too have a *luxS* gene.

LuxS/AI-2-regulated behaviors

Species	Function
<i>Actinobacillus actinomycetemcomitans</i>	Virulence, iron acquisition
<i>Borrelia burgdorferi</i>	Pleiotropic protein expression
<i>Campylobacter jejuni</i>	Motility
<i>Clostridium perfringens</i>	Toxin production
<i>Escherichia coli</i> W3110	Cell division, motility, metabolism
<i>Escherichia coli</i> , EHEC and EPEC	Virulence, type III secretion
<i>Neisseria meningitidis</i>	Bacteremic infection
<i>Photobacterium luminescens</i>	Antibiotic production (carbapenem)
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	Biofilm formation, heme acquisition, protease production
<i>Salmonella typhi</i>	Biofilm formation
<i>Salmonella typhimurium</i>	ABC transporter expression
<i>Shigella flexneri</i>	Transcription factor associated with virulence
<i>Streptococcus mutans</i>	Biofilm formation
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Virulence
<i>Streptococcus pyogenes</i>	Virulence factor expression
<i>Vibrio cholerae</i>	Virulence factor expression
<i>Vibrio harveyi</i>	Luminescence, protease production, type III secretion, colony morphology, siderophore production
<i>Vibrio vulnificus</i>	Virulence

Shown are bacteria with LuxS/AI-2-controlled phenotypes as reported in the literature. EHEC, enterohemorrhagic *E. coli*; EPEC, enteropathogenic

Communication inter-espèces: oui, mais...

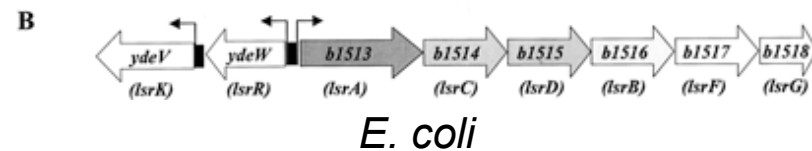
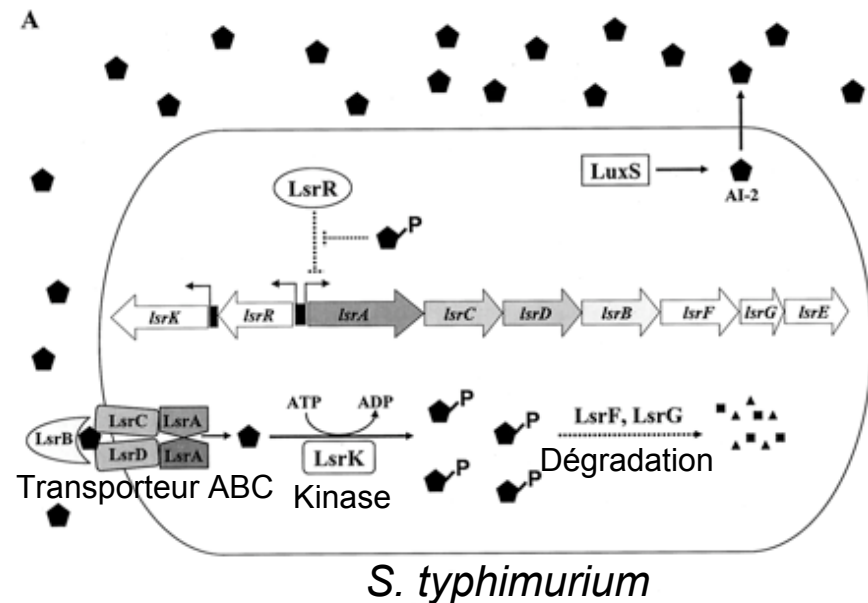
Chez *E. coli* et *S. typhimurium*, en fonction des conditions de croissance, la durée d'existence du signal AI-2 varie considérablement du fait de variations dans l'équilibre production vs. import/destruction.

La diminution de AI-2 qui survient en phase de croissance stationnaire est liée à l'expression combinée d'une fonction d'import (LsrABCD) et de dégradation (LsrKFG) dans le cytoplasme bactérien.

Le transporteur Lsr de AI-2 est activé par AI-2. En absence de AI-2, LsrR réprime l'opéron *lsr*. A la suite de la libération de AI-2, un faible niveau d'import survient et AI-2 est phosphorylé par LsrK. AI-2-P antagonise LsrR, entraînant la dérèpression de *lsr*, l'assemblage du transporteur Lsr, et l'import rapide de AI-2.

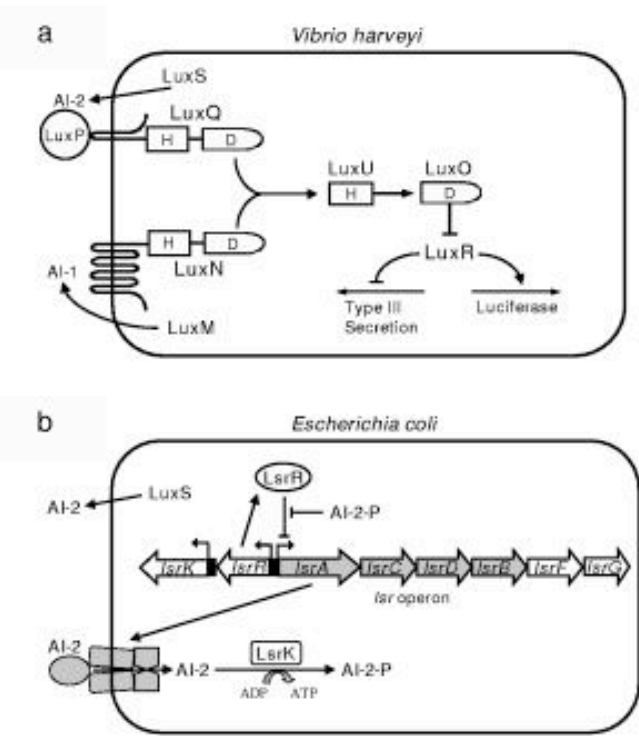
Les mutants LsrR- consomment avidement AI-2 car l'opéron *lsr* est dérèprimé.

Les mutants LsrK- ne consomment pas d'AI-2 du fait de leur incapacité de dérèprimer la transcription de *lsr*.



Les espèces comme *E. coli* et *S. typhimurium* produisent et consomment AI-2.

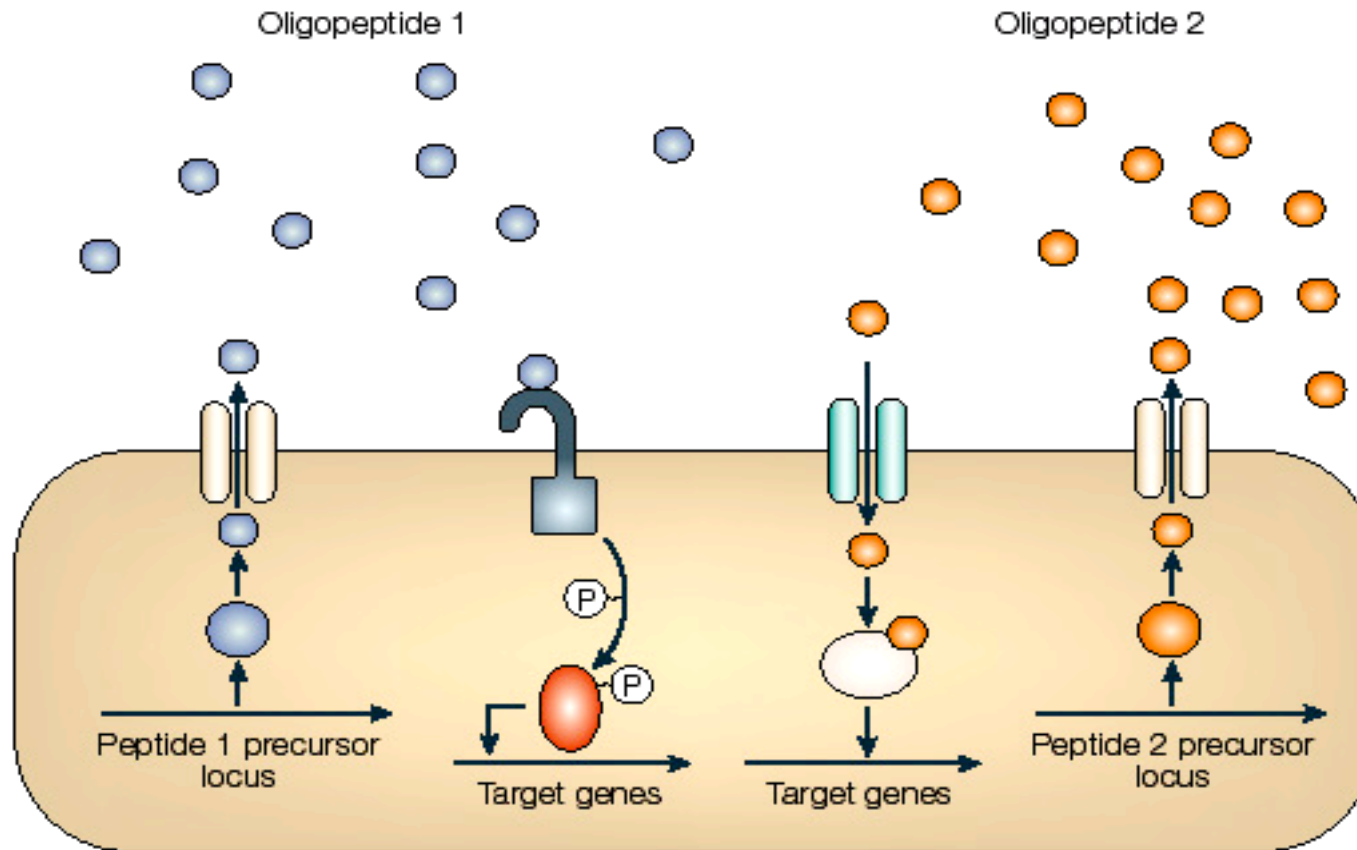
- En phase exponentielle de croissance, elles produisent l’autoinducteur et sont donc susceptibles de signaler aux autres espèces et de leur faire enclencher leur programme génétique QS-dépendant.
- En phase de croissance stationnaire, elles enclenchent un programme d’import et de dégradation de AI-2 qui coupe la signalisation hétérologue inter-espèces.



Les bactéries entériques peuvent donc donner lieu à un effet dual sur les espèces hétérologues voisines:

- Simuler pour elles des conditions de densité induisant une réponse QS-dépendante.
- Ou inversement les priver d’autoinducteur et les mettre en conditions de non réponse, même à densité élevée.

Quorum Sensing chez les bactéries à Gram +



Bacillus subtilis: compétence et sporulation. Le QS permet au microorganisme de s'engager vers l'un ou l'autre état

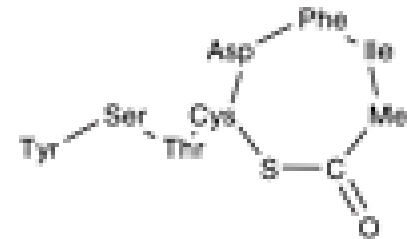
Autoinducteurs des bactéries à Gram positif

Les autoinducteurs des bactéries à Gram positif sont des oligopeptides de 5 à 17 aa qui sont le plus souvent modifiés post-traductionnellement par l'ajout de cycles lactone ou thiolactone, lanthionine et isoprényl.

Ces oligopeptides autoinducteurs sont détectés par des protéines transmembranaires à deux composants transduisant les signaux par une cascade de phosphorylation (Novick RP. 2003. Mol.Microbiol., 48:1429-1436)

De subtiles variations sont reconnues par les récepteurs à deux composants et assurent la spécificité du signal.

Oligopeptide autoinducers



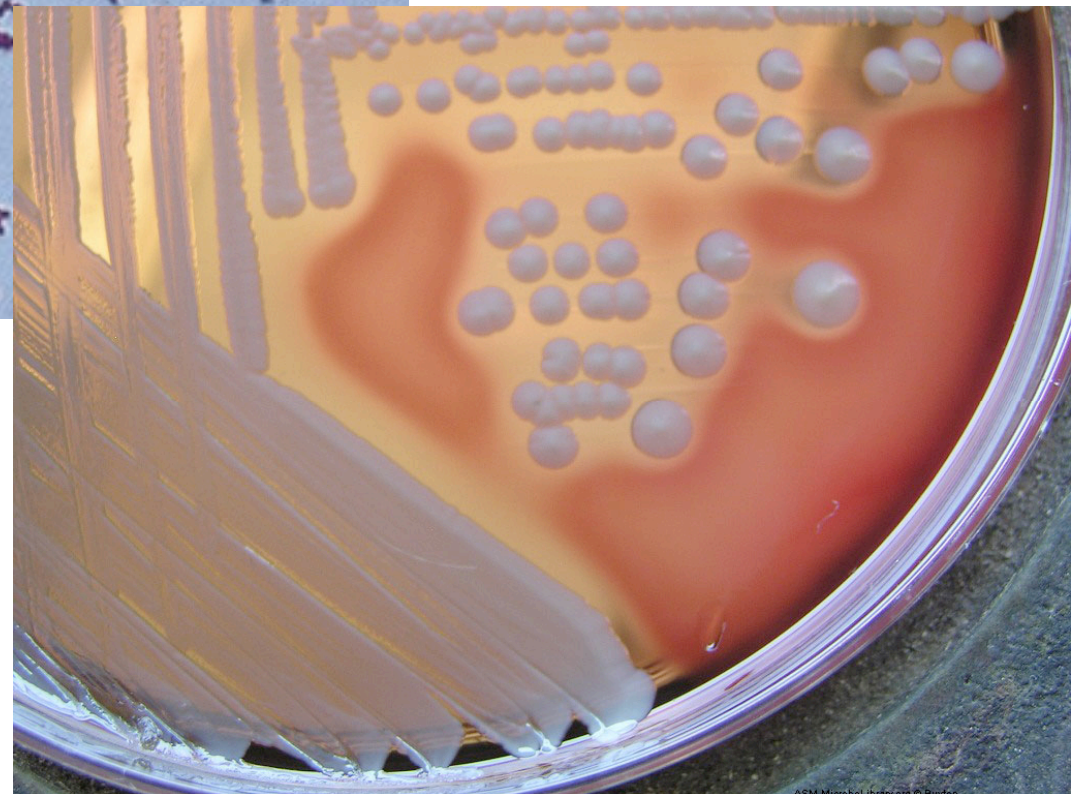
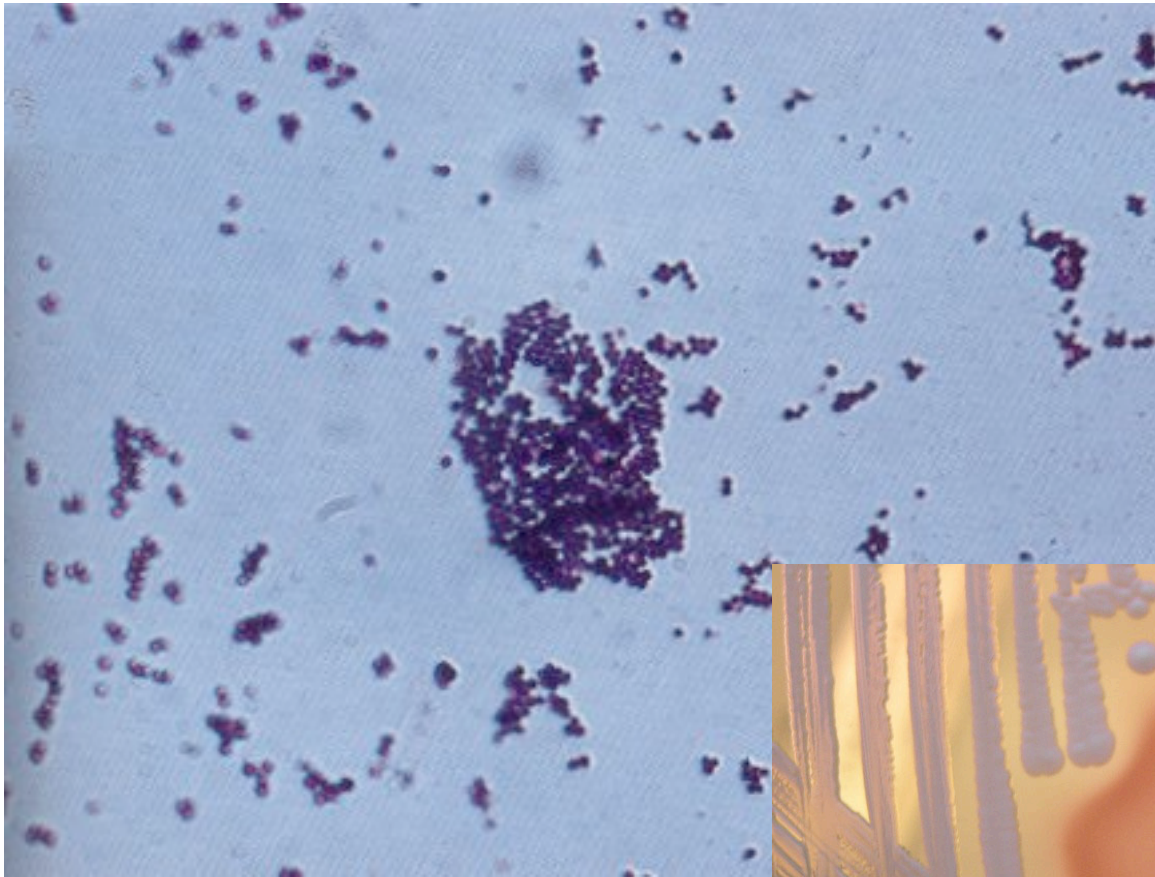
Staphylococcus aureus

ADPITRQWGD

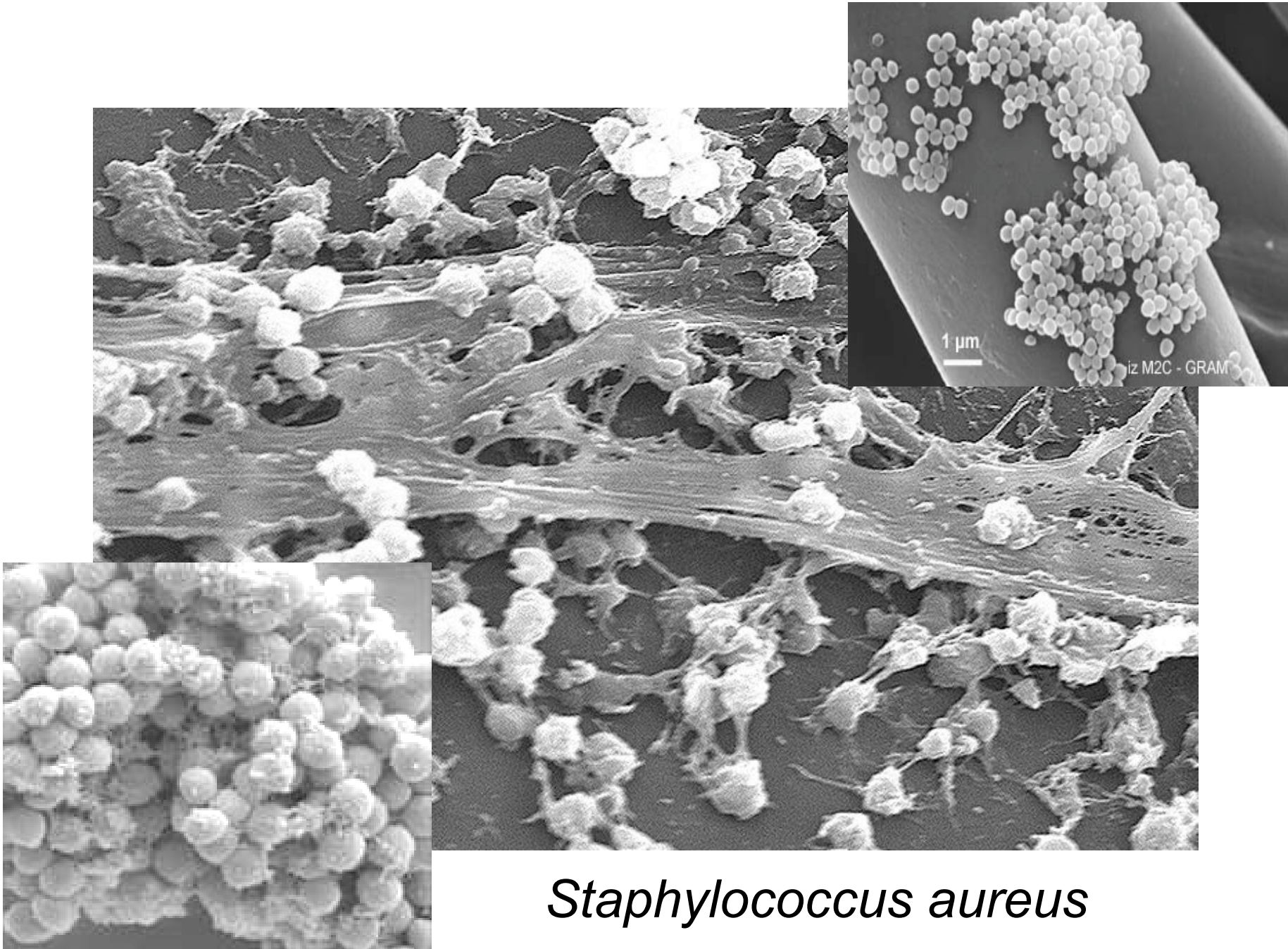
Bacillus subtilis

EMRLSKFFRDFILQRKKO

Streptococcus pneumoniae

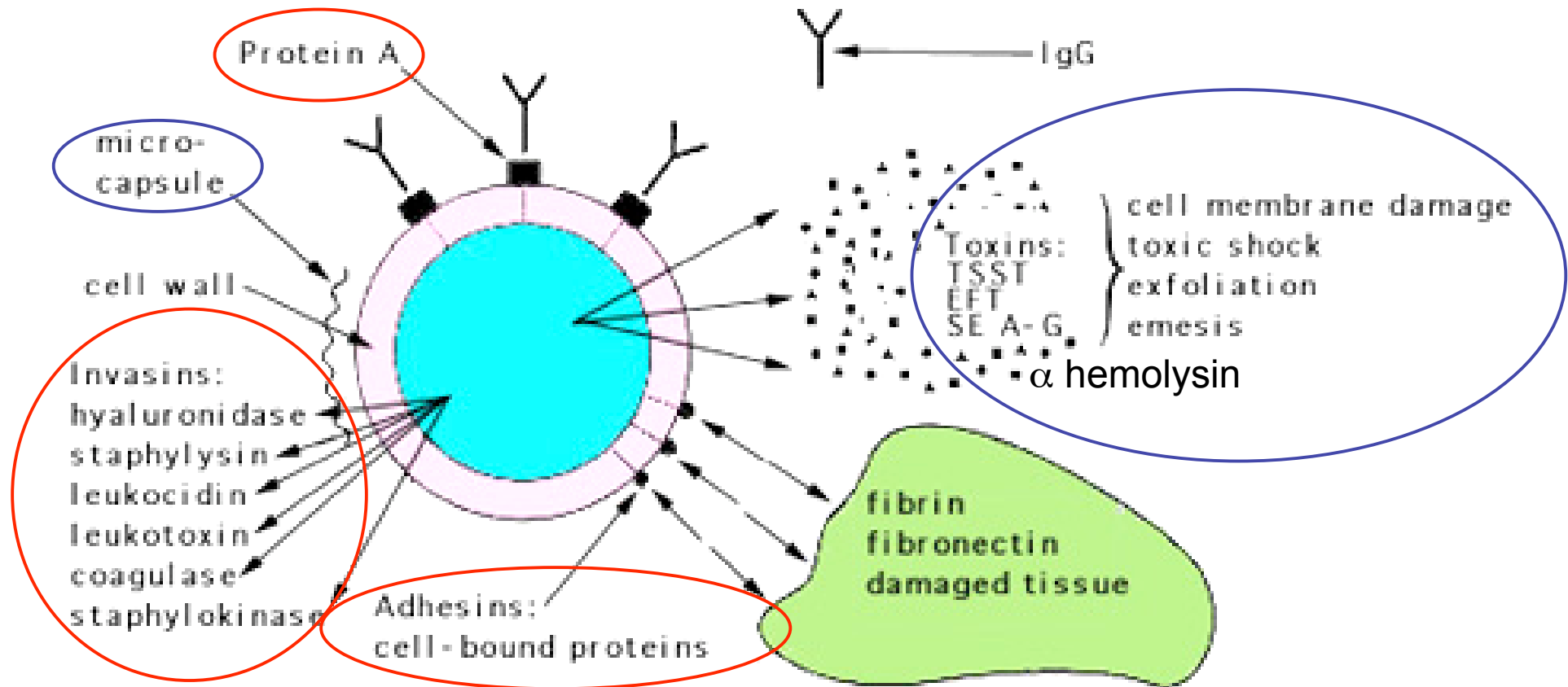


Staphylococcus aureus

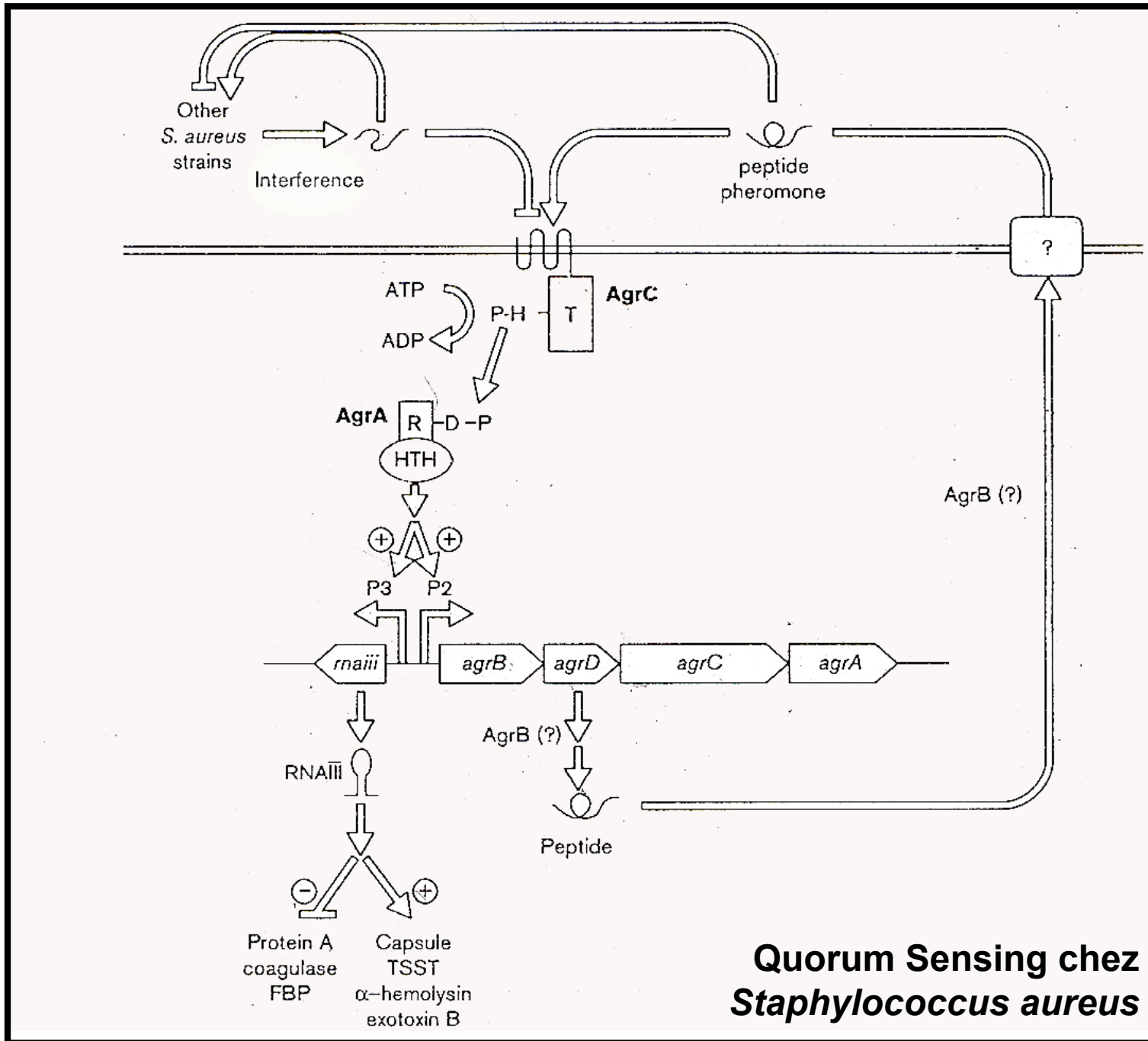


Staphylococcus aureus

Facteurs de virulence de *Staphylococcus aureus*



- Colonisation tissulaire
- Dissémination systémique

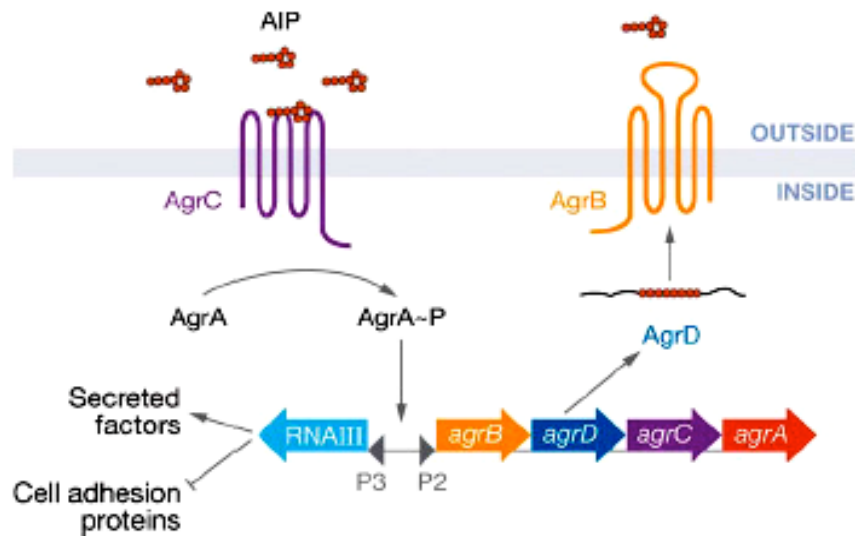


Quorum Quenching (procaryote-procaryote)

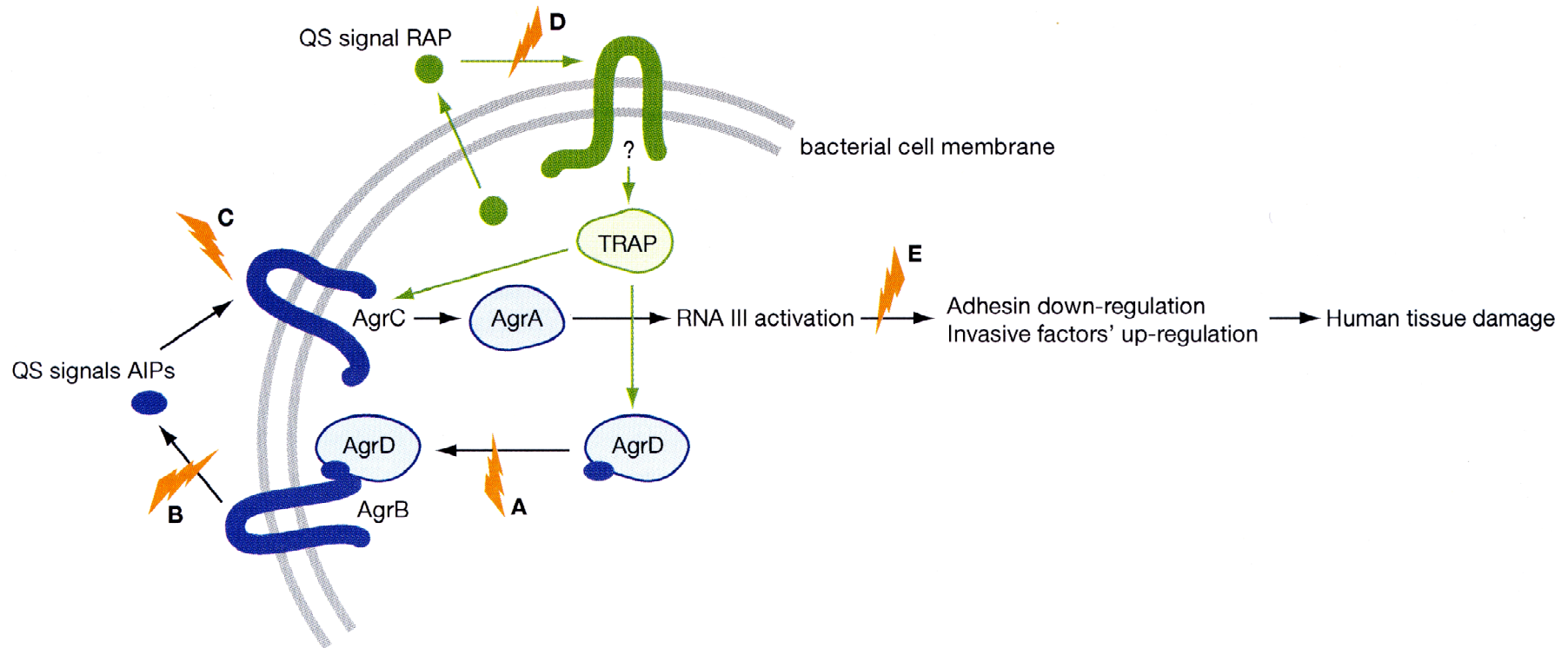
Staphylococcus aureus: stratégie biphasique

Densité bact.faible → facteurs d'attachement et de colonisation

Densité bact. forte → toxines et protéases



- 4 AIP différents
- Inhibe le QS dans l'autre souche sans affecter la croissance



Relation entre virulence et Quorum Sensing chez *S. aureus*

- Cibles thérapeutiques potentielles
- Cibles thérapeutiques éprouvées

Les molécules du Quorum Sensing signalent aux cellules de l'hôte

(Pacheco AR & Sperandio V. 2009. Curr.Opin.Microbiol., 12:192-198)

Evidences croissantes montrant que l'AHL **oxo-C12-HSL** affecte la transduction des signaux et les réponses immunitaires innées des cellules eucaryotes (Kravchenko VV et coll. 2008. Science, 321:192-198)

P. aeruginosa forme un biofilm dans les voies aériennes des patients atteints de mucoviscidose. *In vitro*, oxo-C12-HSL déclenche la production d'IL-8 par des cellules épithéliales respiratoires en culture via les facteurs de transcription NF- κ B et AP-2 (Smith RS et coll. 2001. J.Immunol., 167:366-374)

In vivo, un mutant de *P. aeruginosa* Δ lasI/rhlI déficient dans la production de oxo-C12-HSL et C4-HSL présente une virulence atténuée dans un modèle de pneumonie chez la souris (Smith RS et coll. 2002. J.Bacteriol., 184:1132-1139)

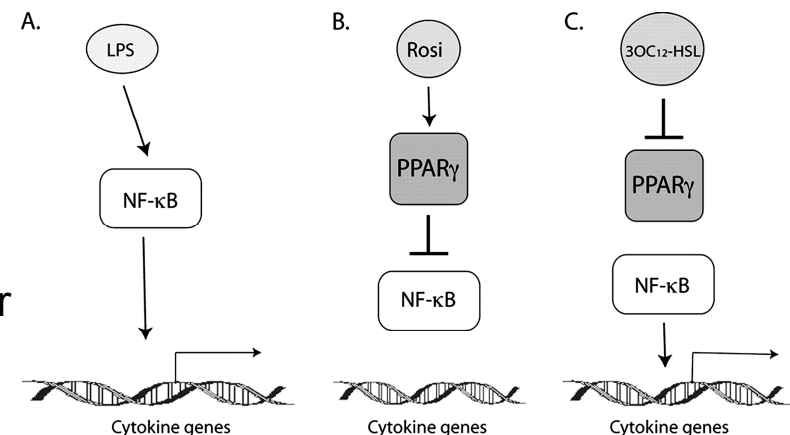
oxo-C1-HSL, mais pas C4-HSL, induit une forte inflammation (augmentation de MCP1, MIP1 α , MIP-1 β , IL1, IL-6, Cox-2 et PGE2).

Mécanismes de la signalisation médiée par l'AHL ?

(Jahoor A et coll. 2008. J.Bacteriol., 190:4408-4415)

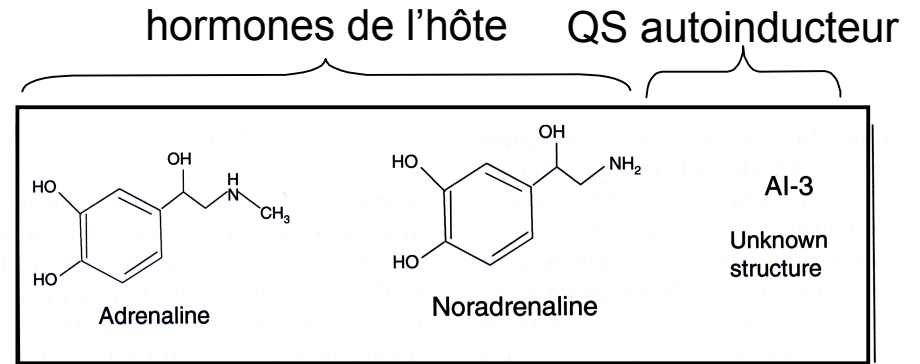
Une hypothèse: le récepteur pour AHL est un récepteur nucléaire. oxo-C12-HSL = antagoniste de PPAR γ

(Rosiglitazone = agoniste = inactivation NF- κ B

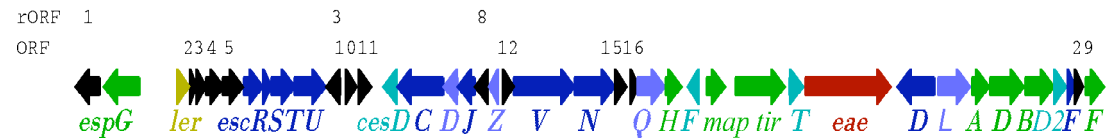


Les hormones de l'hôte parlent aux bactéries (QS inversé)

(Sperandio V et coll. 2003. PNAS, 100:8951-8956
Clarke MB et coll. 2006. PNAS, 103:10420-10425)



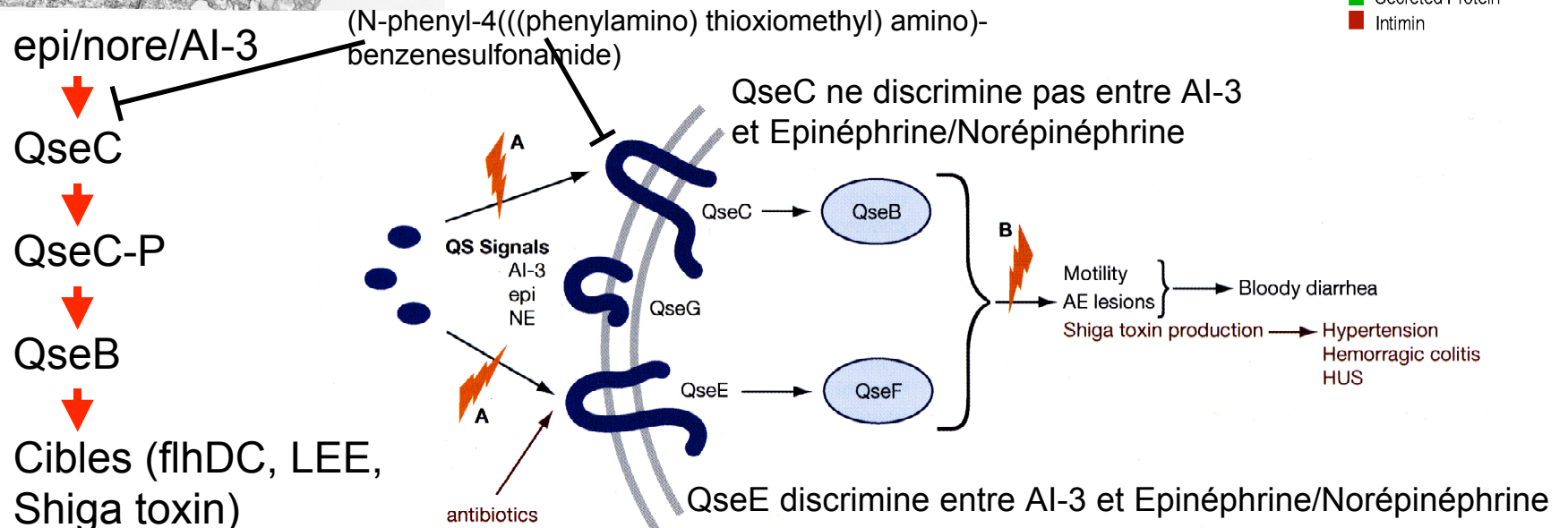
AI-3 = autoinducteur produit par la flore intestinale



LEE

- Regulator
- Esc Secretion System
- Sep Secretion System
- Ces Chaperone
- Secreted Protein
- Intimin

Rasko DA et coll. 2008. Science, 321:1078-1080



Vers un principe plus général de perception du stress des cellules eucaryotes par les bactéries ?

En présence d'un stress, les cellules eucaryotes libèrent des médiateurs hormonaux:

Catécholamines (épinéphrine et norépinéphrine)

Opiïdes (Endorphine et **dynorphine**)

YGGFLRRIRPKLKWDNQ

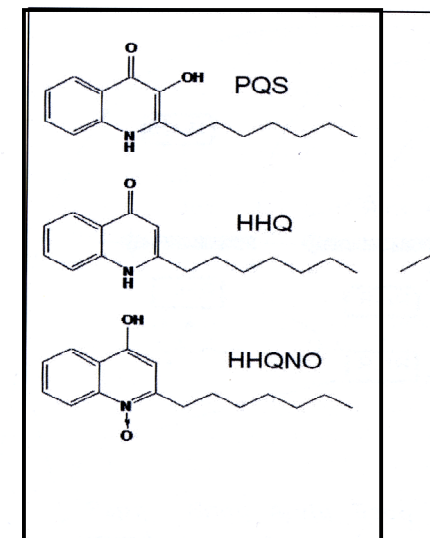
Dynorphin A (1-17)

P. aeruginosa reconnaît un certain nombre d'agonistes du récepteur k aux opioïdes (U-50, 488, dynorphine)

En réponse, il active l'expression de l'opéron *pqsABCDE* qui code pour les trois autoinducteurs impliqués dans la formation de biofilms:

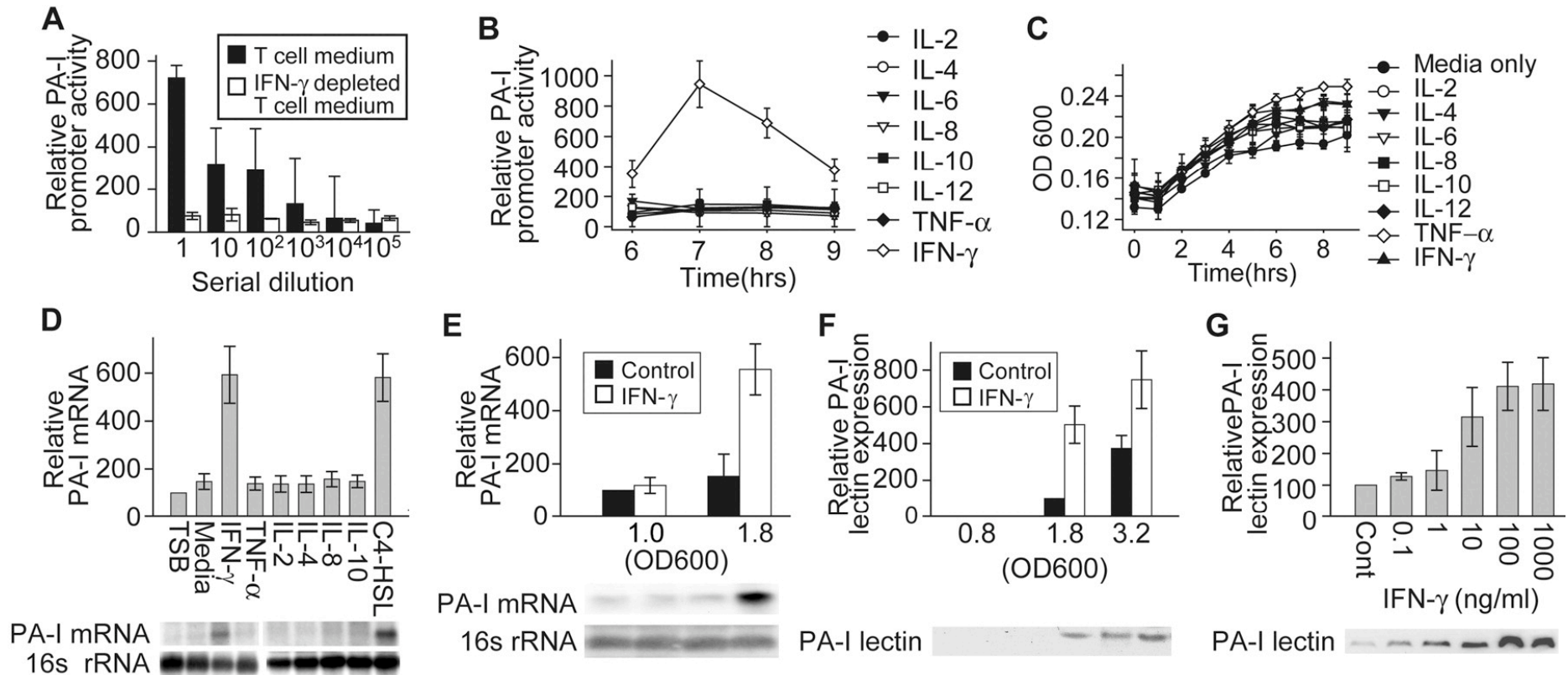
HQNO, HHQ, PQS

(Zaborina O et coll. 2007. PLoSathog., 3:e35)



Il est communément accepté que les microorganismes pathogènes opportunistes profitent de la faiblesse des défenses de l'hôte pour se multiplier, coloniser et disséminer.

Alternativement les microorganismes pathogènes opportunistes pourraient activement percevoir des changements qualitatifs et quantitatifs dans les réponses de l'hôte et y répondre en modifiant/accentuant leur phénotype de virulence.



L'IFN-gamma induit l'expression de la lectine PA-I chez *P. aeruginosa*.

(A) PLL-EGFP/27853 exposé au milieu de cellules T activées au même milieu déplété en IFN-gamma. Expression de PA-I.

(B) Seul l'IFN-gamma induit le promoteur de PA-I (fusion GFP).

(C) Phase stationnaire de *P. aeruginosa* atteinte en 6 h..

(D) *P. aeruginosa* (PAO1) incubé avec 200 ng/ml d'IFN-gamma, TNF-alpha, IL-2, IL-4, IL-8 et IL-10 dans le milieu de culture cellulaire pour 4 h. mRNA de PA-I mesuré par Northern blot. L'induction de mRNA de PA-I est observée seulement en présence d'IFN-gamma et de C4-HSL.

(E) *P. aeruginosa* prélevé à 2 h (OD600 = 1.0) et 4 h (OD600 = 1.8) en présence de 200 ng/ml d'IFN-gamma dans le milieu de culture cellulaire. L'analyse par Northern blot montre que les mRNA de PA-I est significativement augmentée en phase de croissance exponentielle (OD600 = 1.8).

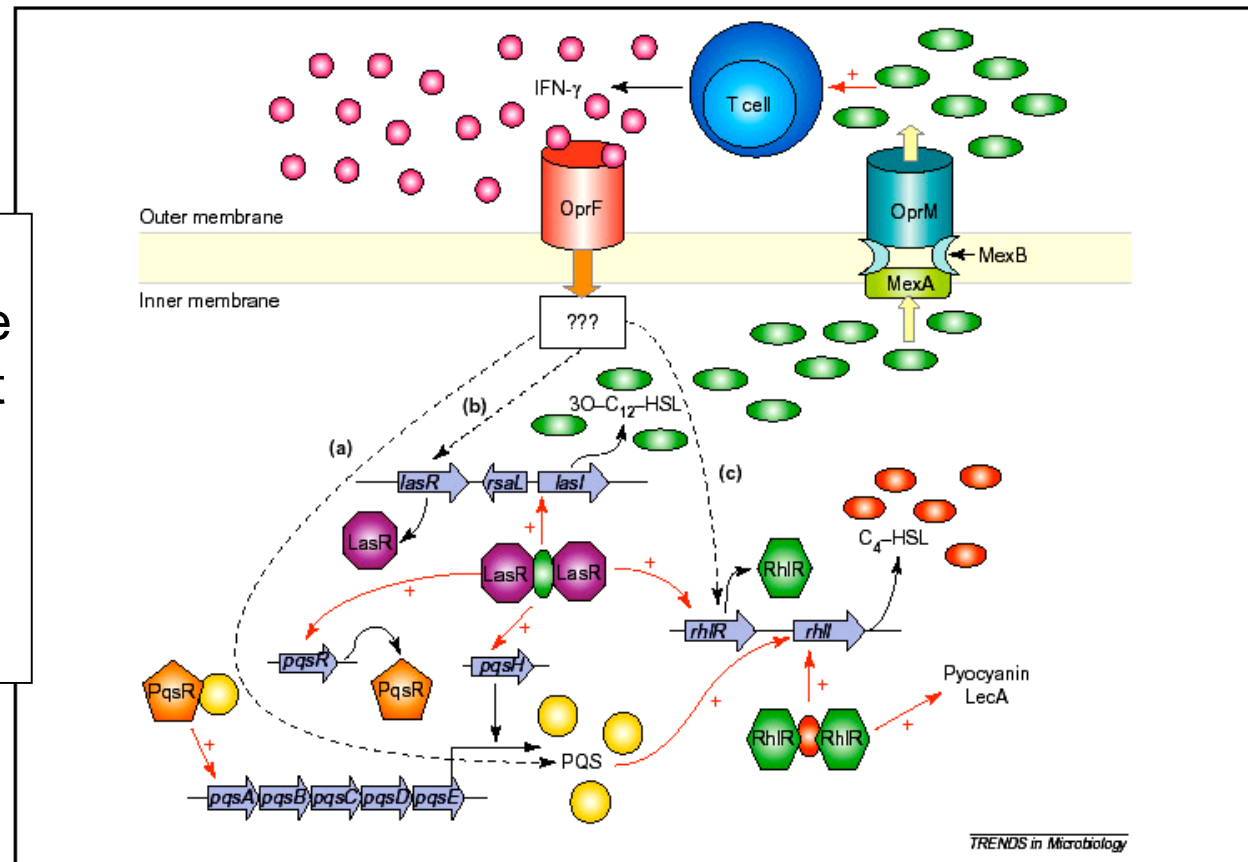
(F) L'expression de PA-I est induite en présence d'IFN-gamma en phase stationnaire de croissance.

(G) Expression de PA-I dépendante de la concentration d'IFN-gamma.

P. aeruginosa perçoit la production d'IFN- γ par l'hôte et stimule en réponse l'expression de PA-I.

-La Lectine de Type 1 de *P. aeruginosa* (PA-I = adhésine) est nécessaire à la virulence. Entraîne une perméabilité accrue des cytotoxines de *P. aeruginosa* au travers de l'épithélium respiratoire. L'expression de PA-I dépend du QS.

L'IFN- γ se lie à une protéine de membrane externe: OprF et induit l'expression de PA-I une lectine impliquée dans la virulence via l'induction du QS.



Une théorie intégrée procaryotes/eucaryotes du Quorum Sensing ?

Les protéines rhomboïde (RHO) représentent une famille de sérine protéases très conservée impliquée dans la transduction du signal induite par l'EGF.

Protéines transmembranaires à 7 domaines, mature la forme liée à la membrane du ligand de l'EGFr en une forme libre active

Etudiées surtout chez *Drosophila melanogaster*, elles sont en fait présentes chez tous les phyla: eubactéries, levures, archea et plantes (Gallio M et coll. 2002. PNAS, 99:12208-12213)

Le produit du gène *aarA* de *Providentia stuartii* est le premier analogue procaryote identifié des protéines RHO
Production d'un autoinducteur non identifié qui régule l'expression d'une acétyl-transférase qui modifie le peptidoglycane

AarA de *P. stuartii* est capable de compléter le phénotype d'un mutant *rho-1* de *D. melanogaster*
Le gène *rho-1* de *D. melanogaster* complémente la mutation *aarA* dans *P. stuartii* (Gallio et coll. 2002)

