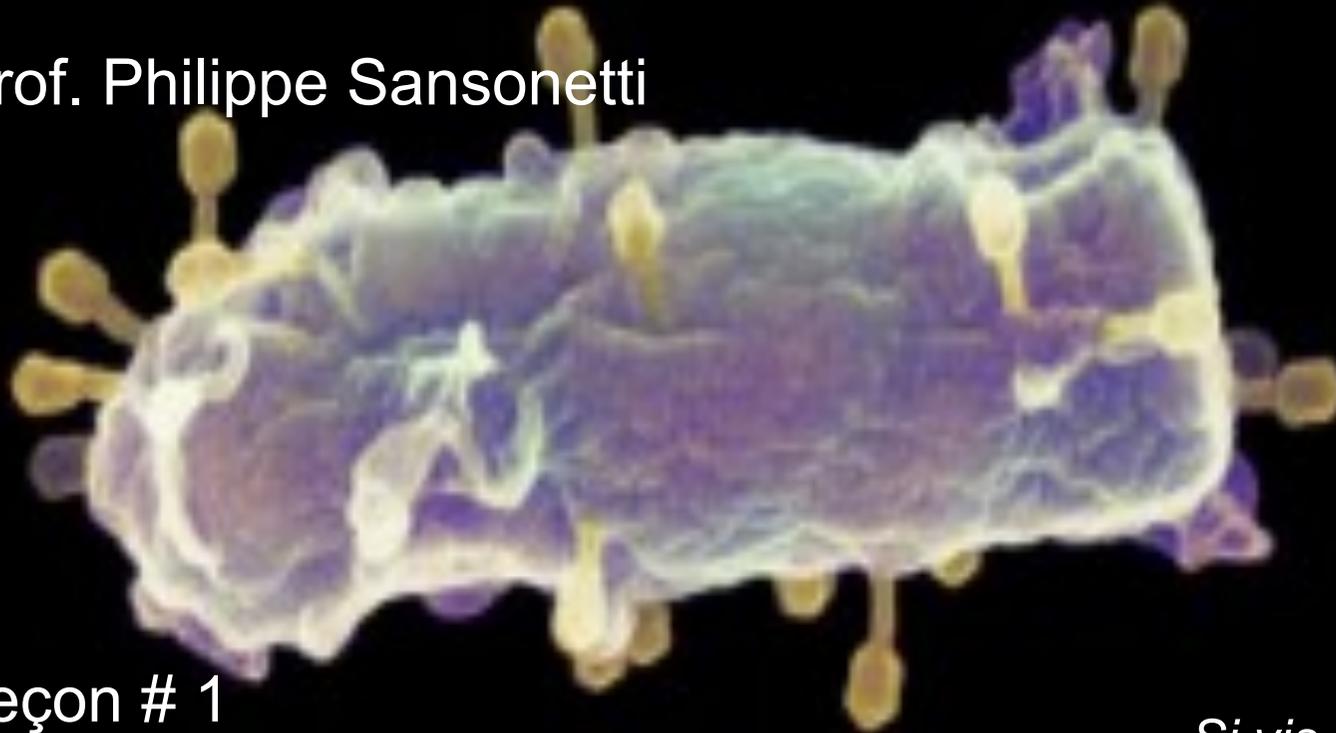


Mécanismes assurant homéostasie et intégrité des populations microbiennes complexes

Prof. Philippe Sansonetti



Leçon # 1

Si vis pacem, para bellum

Collège de France

02 décembre 2015



COLLÈGE
DE FRANCE
— 1530 —



INSTITUT PASTEUR

Inserm

Institut national
de la santé et de la recherche médicale

Populations microbiennes complexes

L'existence de communautés microbiennes complexes (multi-espèces) est la règle plus que l'exception dans les environnements marins et terrestres comme dans les microbiotes associés à des organismes vivants (plantes et animaux).

La "nouvelle microbiologie" s'est emparée de ce thème, en particulier dans le domaine des maladies infectieuses où l'on est passé du concept classique, binaire: "un pathogène-un hôte", au concept de "ménage à trois": "un pathogène-un microbiote-un hôte".

Il est indispensable de comprendre les bases génétiques et moléculaires qui régissent l'établissement, le maintien et la résilience de ces sociétés microbiennes, y compris la nature des pressions sélectives qui ont amené à leur constitution.

Impact médical majeur attendu.

Microbiologie environnementale = leader (séminaire P. L-G)

REVIEWS

Bacterial competition: surviving and thriving in the microbial jungle

*Michael E. Hibbing**, *Clay Fuqua**, *Matthew R. Parsek[†]* and *S. Brook Peterson[‡]*

Abstract | Most natural environments harbour a stunningly diverse collection of microbial species. In these communities, bacteria compete with their neighbours for space and resources. Laboratory experiments with pure and mixed cultures have revealed many active mechanisms by which bacteria can impair or kill other microorganisms. In addition, a growing body of theoretical and experimental population studies indicates that the interactions within and between bacterial species can have a profound impact on the outcome of competition in nature. The next challenge is to integrate the findings of these laboratory and theoretical studies and to evaluate the predictions that they generate in more natural settings.

Déchiffrer les effets de la co-évolution

Nothing in biology makes sense except in the light of evolution
Theodosius Dobzhansky

Survie au prix d'une compétition impitoyable pour des ressources nutritionnelles (extension des équations de J. Monod: relation entre concentration limitante de nutriments et croissance bactérienne)

- Qui va éventuellement générer des "alliances objectives" = symbiose, mutualismes, dont la logique reste le plus souvent à déchiffrer:
"loi du premier occupant", "effet de barrière"

- Qui va susciter une "course aux armements" = mécanismes d'attaque et de défense entre les microorganismes, dont les éléments principaux commencent à être identifiés

La crise de l'antibiorésistance est sans doute un dommage collatéral de cette "course aux armements" intermicrobienne attisée par l'usage incontrôlé des antibiotiques

Compétition pour l'acquisition de nutriments

Paramètre clé du maintien de l'homéostasie et de l'intégrité des populations microbiennes complexes

Compétition pour nutriments ("statique")

Compétition pour nutriments ("dynamique")

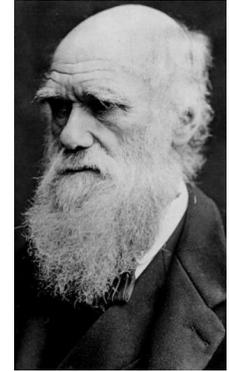
- Mobilité
- Etablissement de systèmes communautaires marqués par des symbioses
- Expression d'activités prédatrices (Antibiotiques, colicines, bactériophages, T6SS...)

Concept de valeur sélective/adaptative = "fitness"

Nor ought we to marvel if all the contrivances in nature be not, as far as we can judge, absolutely perfect; and if some of them be abhorrent to our idea of fitness

Charles Darwin, 1859

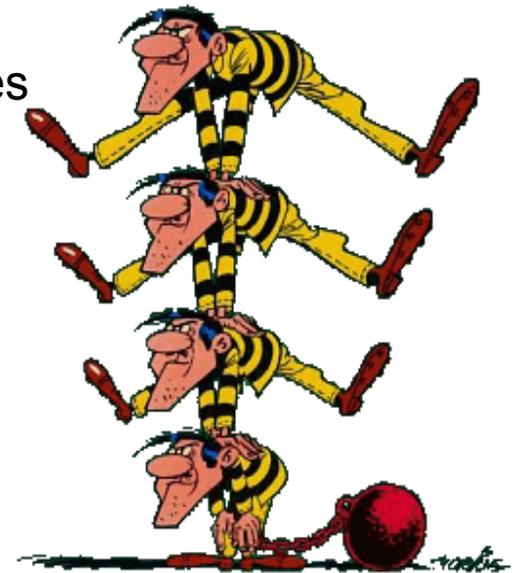
The origin of species (1st Edition)



La valeur sélective/adaptative (fitness) d'une bactérie se définit par sa capacité d'ajuster son métabolisme afin de répondre aux conditions environnementales auxquelles elle doit faire face pour survivre.

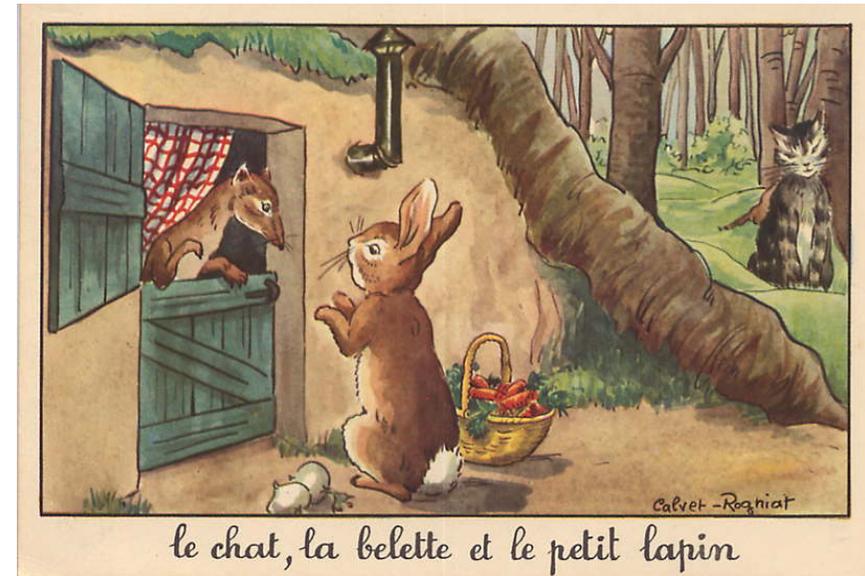
En l'absence de cette capacité ou lors de l'acquisition de nouvelles propriétés qui ont un coût d'adaptation ("fitness cost"), la bactérie perd tout avantage sélectif et est éliminée de cet environnement.

Base de l'effet de barrière du microbiote



Exemple de compétition:

- effet de barrière
- loi du "premier occupant"



Mettre l'intrus en position de coût excessif d'adaptation:

Les bactéries commensales subtilisent les nutriments nécessaires aux bactéries allogènes/pathogènes (microbiote intestinal...)

Mais aussi:

Les bactéries établies disposent de moyens d'attaque et de défense

Les bactéries établies assurent une occupation préalable de récepteurs

Les bactéries établies stimulent l'immunité innée locale

La présence de communautés complexes établies rend difficile l'invasion de la niche intestinale par une bactérie allogène/pathogène

L'utilisation d'animaux axéniques, ou un pré-traitement antibiotique, induit une plus grande sensibilité de la souris à des bactéries pathogènes comme *E. coli*, *C. difficile*, *V. cholerae*, *C. rodentium* (Reeves & coll., 2012, Infect Immun; Collins & coll., 1978, Infect Immun; Butterton & coll., 1996, Infect Immun; Kamada & coll., 2012, Science)

LETTER

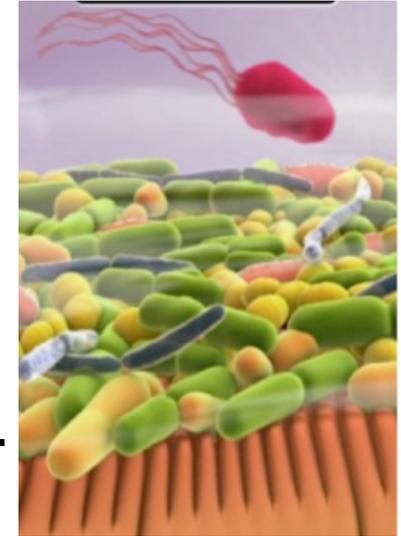
doi:10.1038/nature12503

Microbiota-liberated host sugars facilitate post-antibiotic expansion of enteric pathogens

Katharine M. Ng^{1*}, Jessica A. Ferreyra^{1*}, Steven K. Higginbottom¹, Jonathan B. Lynch¹, Purna C. Kashyap^{1†}, Smita Gopinath¹, Natasha Naidu², Biswa Choudhury², Bart C. Weimer³, Denise M. Monack¹ & Justin L. Sonnenburg¹

L'altération de la flore commensale de la souris par un traitement antibiotique entraîne la libération de fortes concentrations d'acides sialiques libres que *S. typhimurium* et *C. difficile* catabolisent et utilisent comme source d'énergie (Nature, 2013).

Primo-colonisation



Problématique fondamentale: bases moléculaires et cellulaires de la colonisation. **Modalités d'étude...**

Méthode d'analyse = **génomique fonctionnelle**

3 approches:

- **Clonage-expression** de fragments génomiques d'une souche de "fitness" élevée dans une souche de "fitness" faible et recherche de transformants ayant acquis une "fitness" égale ou proche de la souche donatrice.

- **Tn-seq**

- **Signature-tagged mutagenesis (STM)**

Clonage-expression: un facteur métabolique de colonisation chez *Bacteroides fragilis*

LETTER

Nature, 2013

doi:10.1038/nature12447

Bacterial colonization factors control specificity and stability of the gut microbiota

S. Melanie Lee¹, Gregory P. Donaldson^{1*}, Zbigniew Mikulski^{2*}, Silva Boyajian¹, Klaus Ley² & Sarkis K. Mazmanian¹

Génomique fonctionnelle:

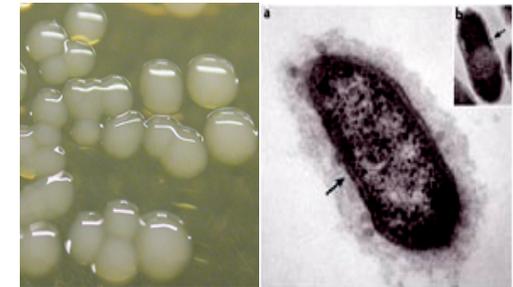
Modèle = colonisation compétitive de l'intestin murin axénique par *B. fragilis*.
Clonage de séquences génomiques de *B. fragilis* et expression dans *B. vulgatus*, phénotype recherché = capacité de co-colonisation.

Identification d'un cistron (*ccf* = commensal colonization factor)

La délétion de *ccf* diminue la capacité de colonisation et de transmission.

L'expression de *ccf* est augmentée lorsque la bactérie est présente dans l'intestin, en particulier à proximité de la surface épithéliale.

B. fragilis dans des conditions gnotoxéniques traverse la barrière de mucus et occupe stablement le canal central des cryptes coliques, contrairement au mutant *ccf*.



Nature Reviews | Microbiology

Monocontamination de souris axéniques:
Niche occupée contre une souche
homotypique

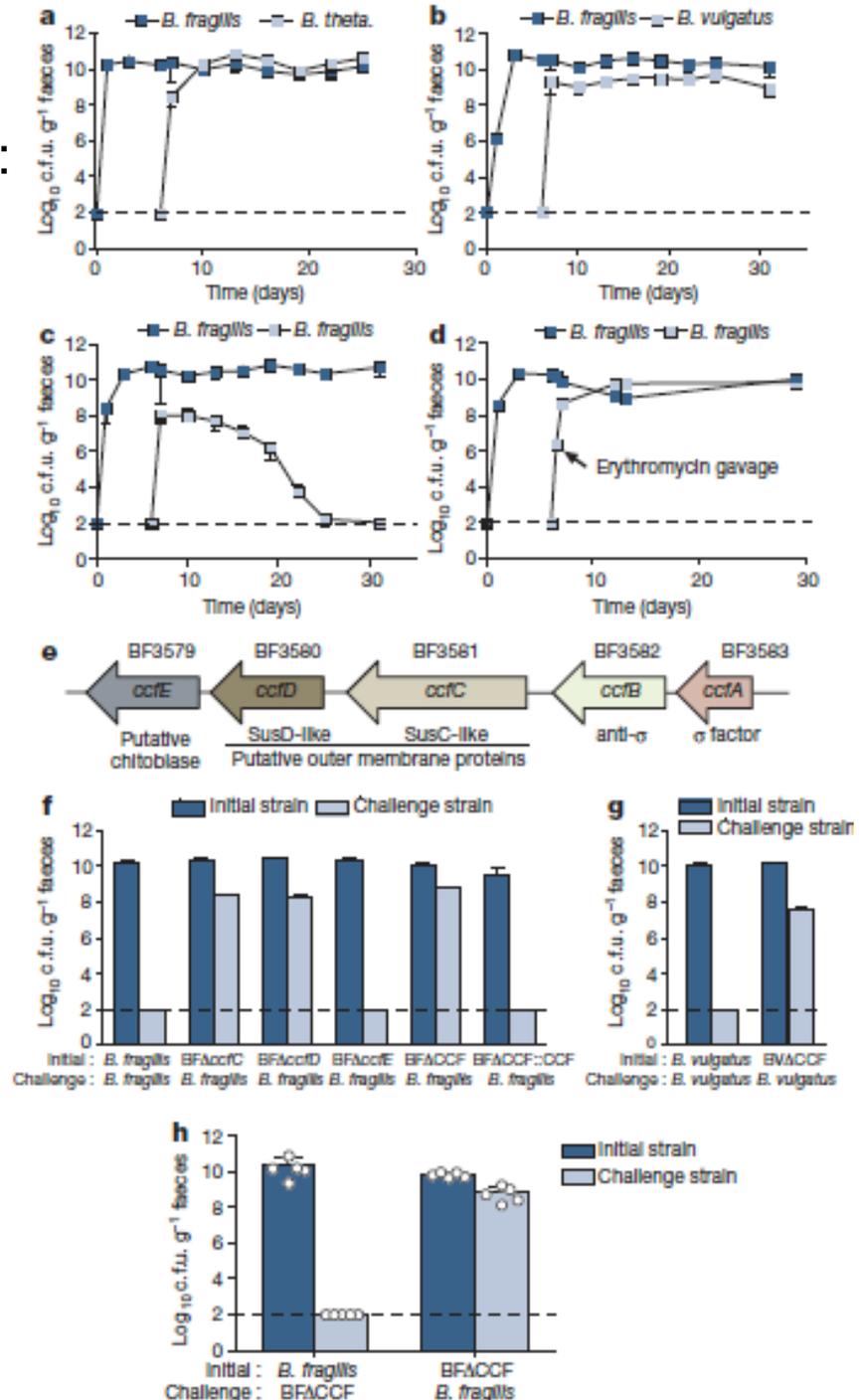
Niche non occupée contre une souche
hétérotypique

ccfC / *D* = sus-like gènes codant pour
protéines de membrane externe
impliquées dans le transport des sucres

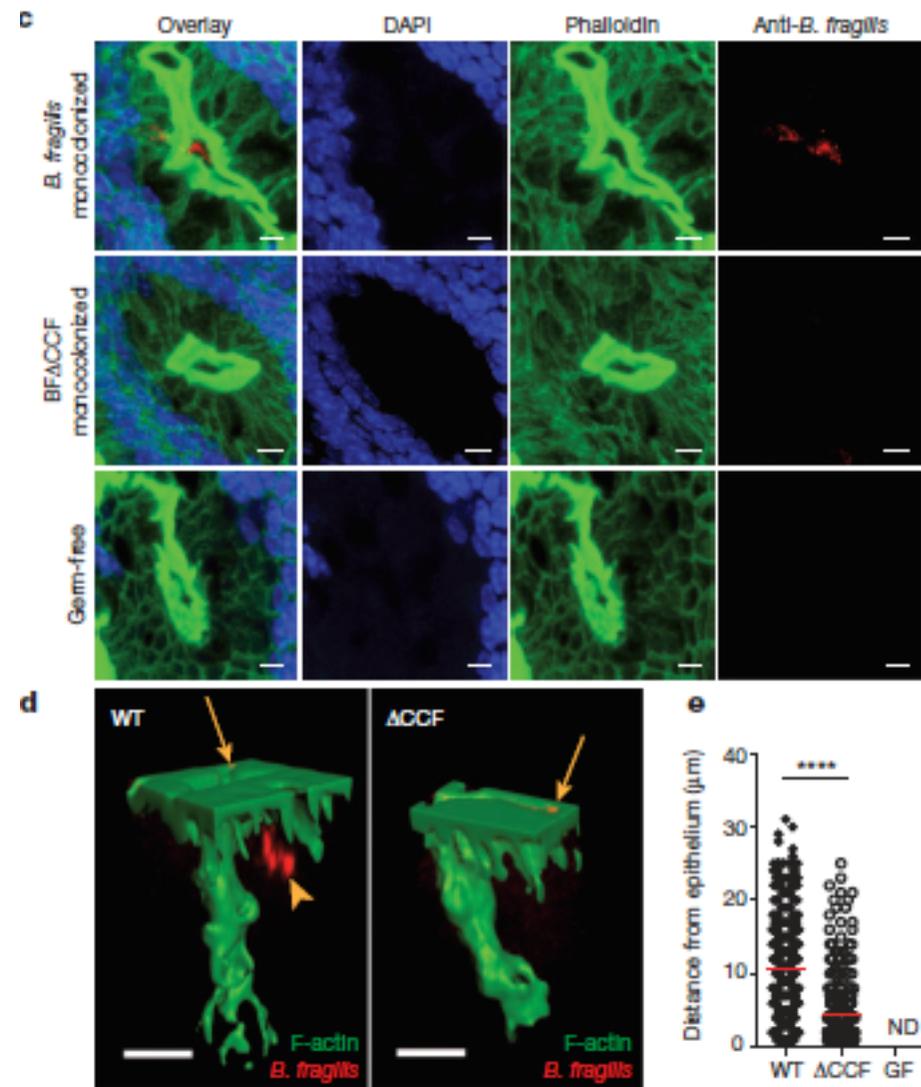
ccfE = chitobiase
(production du substrat ?)

Expériences de compétition montrant
le rôle du cistron *ccf* dans la capacité
de colonisation de la niche intestinale

Nature de la niche ?



Potentiel de colonisation de *B. fragilis* *ccf+*/*ccf-* dans la crypte colique de souris axéniques monocontaminées



Tn-seq

Identifying Genetic Determinants Needed to Establish a Human Gut Symbiont in Its Habitat

Andrew L. Goodman,¹ Nathan P. McNulty,¹ Yue Zhao,¹ Douglas Leip,¹ Robi D. Mitra,¹ Catherine A. Lozupone,^{1,2} Rob Knight,² and Jeffrey I. Gordon^{1,*}

¹Center for Genome Sciences, Washington University School of Medicine, St. Louis, MO 63108, USA

²Department of Chemistry and Biochemistry, University of Colorado, Boulder, CO 80309, USA

*Correspondence: jgordon@wustl.edu

DOI 10.1016/j.chom.2009.08.003

Génomique fonctionnelle Tn-seq

Bacteroides tetaiotamicron

Modèle = colonisation de l'intestin de la souris

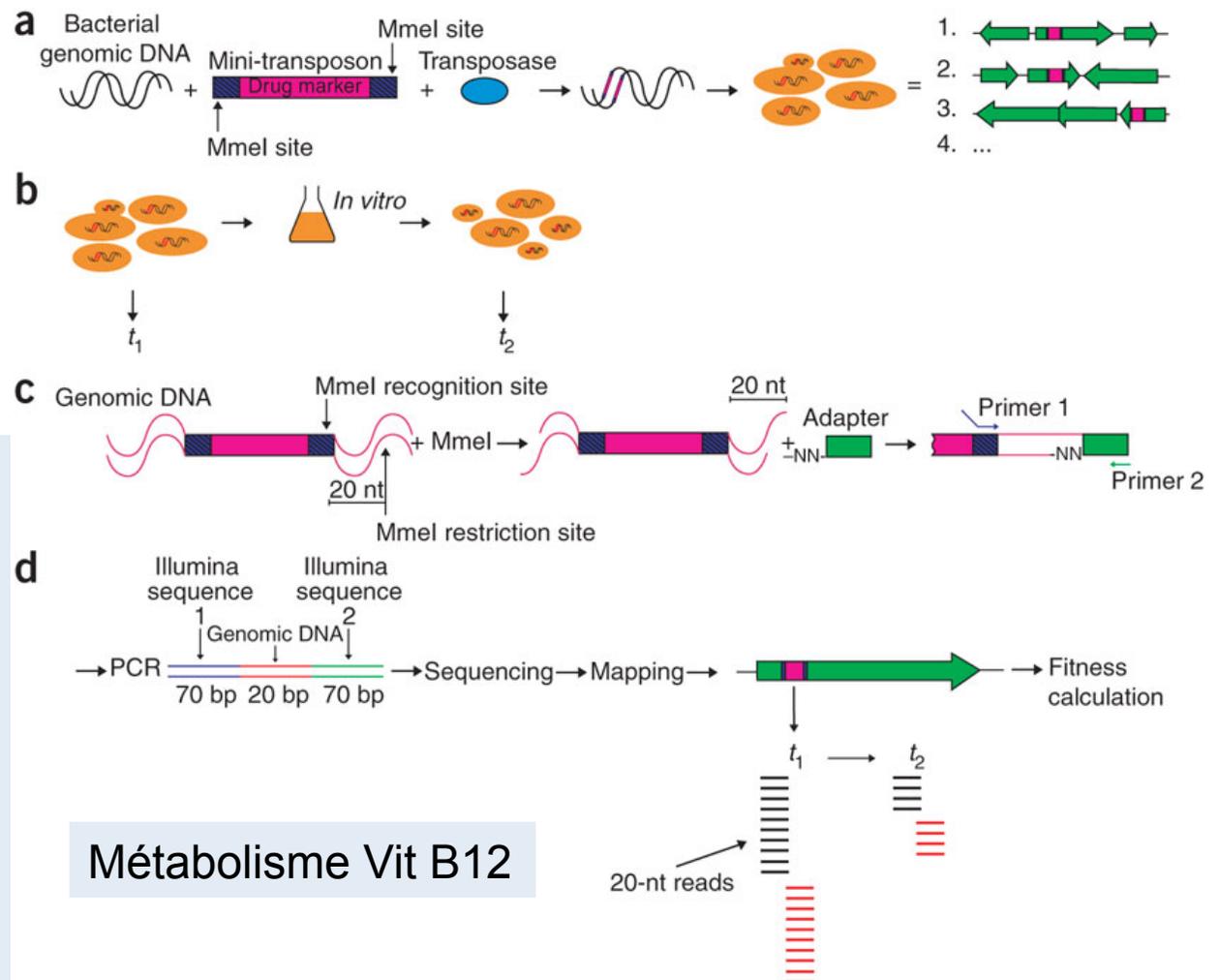
Préparation d'une librairie de mutants pour Tn-seq:

L'ADN génomique est extrait de l'"input population" et de l'"output population" des bactéries mutagénisées.

Coupe par enzyme de restriction, Séparation par PAGE.

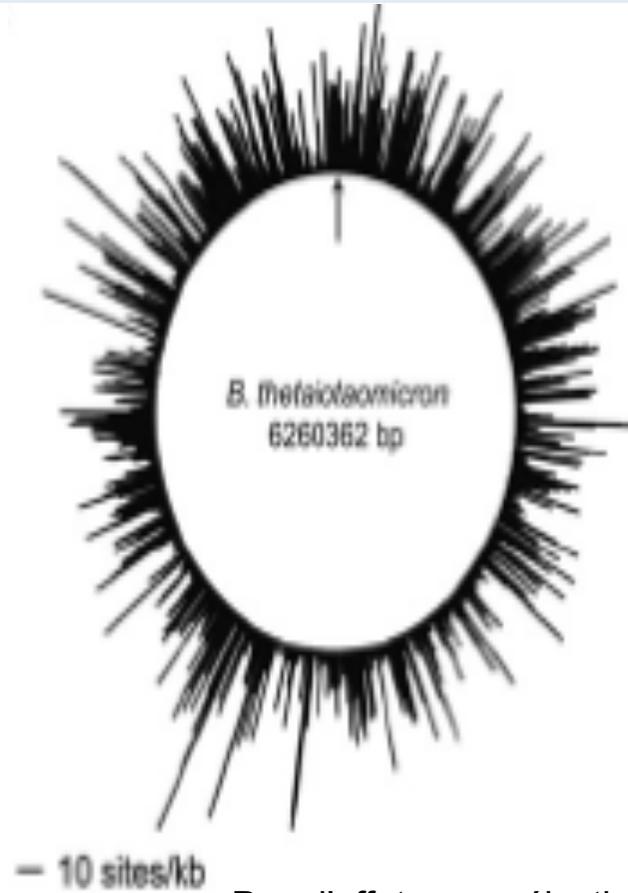
Ligation d'adaptateurs d'ADN double-brin

Cycles limités d'amplification PCR
Séquençage profond



Métabolisme Vit B12

Tn-seq: une approche à haut débit de séquençage parallèle pour l'étude des gènes de fitness et des interactions génétiques chez les bactéries



Vit B12 = cofacteur de réactions enzymatiques essentielles:

- Isomérases
- Méthyltransférases
- Déhalogénases

Rapport de fitness

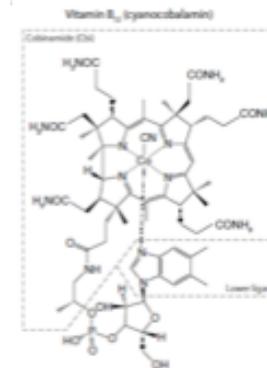
Pas d'effet sous sélection →
 Gène essentiel →
 Gène requis sous la pression sélective →

Gene #	# of Tn reads mapped to genome	
	No Selection	Selection applied
Gene 1:	14245	13254
Gene 2:	0	0
Gene 3:	4523	0
.....

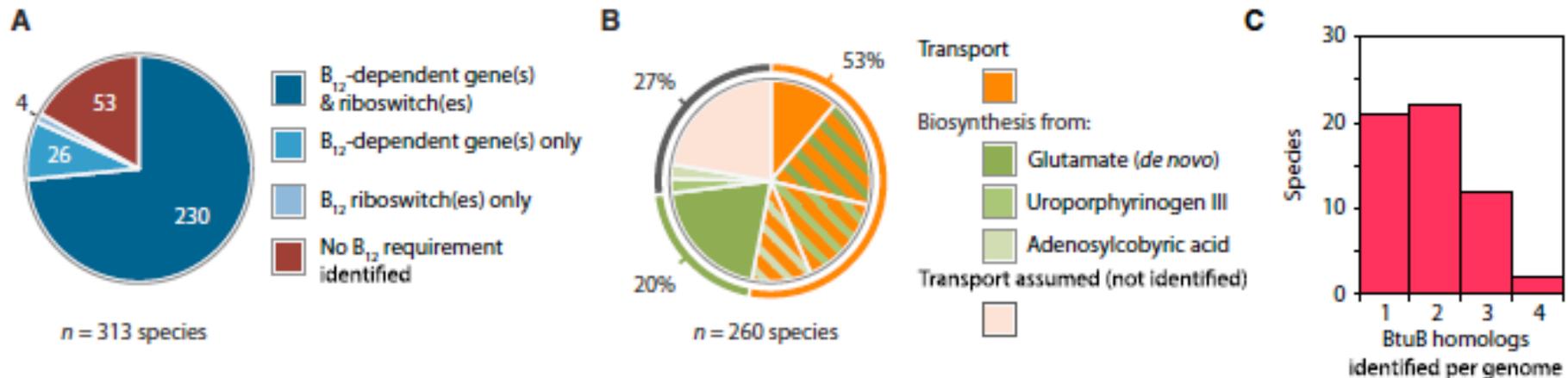
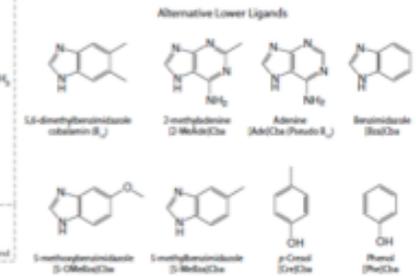
Human Gut Microbes Use Multiple Transporters to Distinguish Vitamin B₁₂ Analogs and Compete in the Gut

Patrick H. Degnan,^{1,3} Natasha A. Barry,¹ Kenny C. Mok,² Michiko E. Taga,² and Andrew L. Goodman^{1,*}
¹Department of Microbial Pathogenesis and Microbial Diversity Institute, Yale University, New Haven, CT 06536, USA
²Department of Plant and Microbial Biology, University of California, Berkeley, Berkeley, CA 94720, USA
³Present address: Department of Microbiology, University of Illinois at Urbana-Champaign, Urbana, IL 61801, USA
 *Correspondence: andrew.goodman@yale.edu
<http://dx.doi.org/10.1016/j.chom.2013.12.007>

Vit B12



Corrinoïdes



Large redondance des systèmes de transport de la Vit B12 et corrinoïdes dans les génomes des bactéries du microbiome intestinal.

Plus de 80% des espèces possèdent des gènes ou des riboswitches dépendant de la Vit. B12.

La plupart de ces espèces sont dépourvues des gènes de synthèse de la Vit. B12 et doivent recourir à des transporteurs afin d'assurer leurs besoins en Vit. B12.

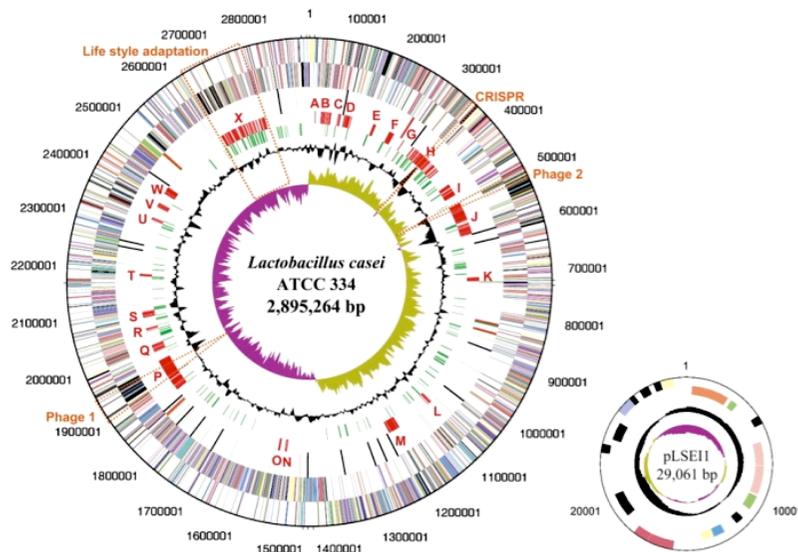
Nombreux transporteurs chez *Bacteroides*. 3 chez *B. tetaiotamicon*

"Signature-tagged mutagenesis": mutagénèse du génome de *Lactobacillus casei*, librairie "genome-wide", assemblage et criblage phénotypique: génomique fonctionnelle d'un symbiote

Génome de *L. casei* ATCC 334

- 2,9 Mb, 2900 genes (10 – 20% essential ?)
- 26% des gènes sans prédiction de fonction.
- un plasmide: pLSEI1 (29 kbp)

Hélène LICANDRO-SERAUT,
Hélène SCORNEC, Jean-
François CAVIN, Thierry
PEDRON, Philippe
SANSONETTI
Institut Pasteur, Paris, France.
UMRA, AgroSup Dijon,
Université de Bourgogne



Cai H et al. Genome Biol Evol 2009;1:239-257

Limites d'une analyse génétique (génétique réverse):

- Très bas taux de transformation
- Fréquence de la résistance naturelle aux antibiotiques
- Incompatibilité avec des plasmides résidents

Développement d'outils pour la mutagénèse: P_{junc} -T $paselS_{1223}$ system

Licandro-Seraut et al. 2012. Appl Environ Microbiol.



Functional genomics of *Lactobacillus casei* establishment in the gut

Hélène Licandro-Seraut^{a,b,c}, Hélène Scornec^a, Thierry Pédrón^{b,c}, Jean-François Cavin^a, and Philippe J. Sansonetti^{b,c,d,1}

^aUnité Mixte de Recherche A 02102 Procédés Alimentaires et Microbiologiques, AgroSup Dijon/Université de Bourgogne, 21000 Dijon, France; ^bUnité de Pathogénie Microbienne Moléculaire and ^cInstitut National de la Santé et de la Recherche Médicale U786, Institut Pasteur, 75724 Paris Cedex 15, France; and ^dChaire de Microbiologie et Maladies Infectieuses, Collège de France, 75005 Paris, France

Contributed by Philippe J. Sansonetti, June 25, 2014 (sent for review April 1, 2014)

Although the composition of the gut microbiota and its symbiotic *Lactobacillus* spp. pioneer initial gut colonization (18), and

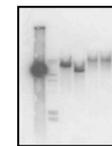
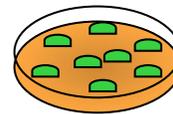
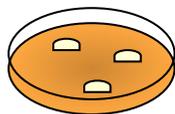
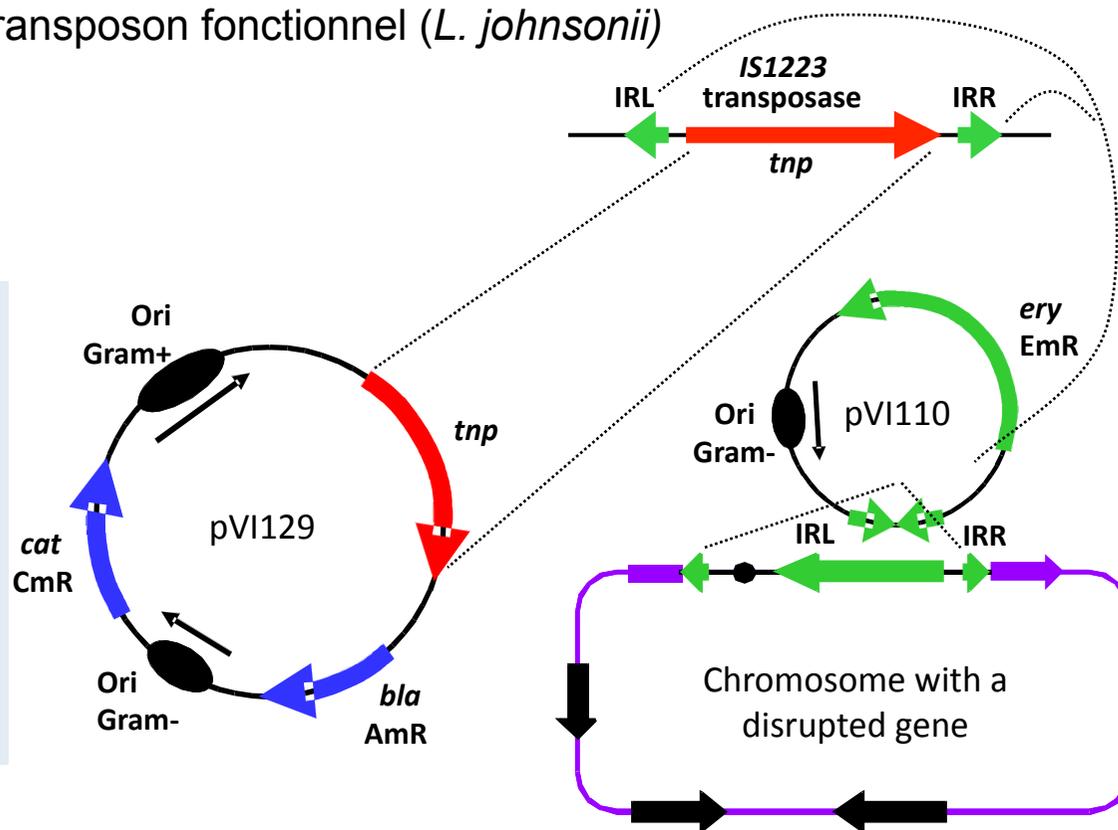
Outils développés pour la mutagénèse de *L. casei*

(collaboration avec Pascale Serror, Unité BLPO, INRA, Jouy-en-Josas, France)

Transposase + IRs spécifiques = transposon fonctionnel (*L. johnsonii*)

➤ pVI129:
Gram(-)/Gram(+) vecteur navette.
instable chez les Gram(+).

➤ pVI110:
Pas de gène *tnp* (stable chez *E. coli*, suicide chez Gram(+))
=> integration seulement avec pVI129.



Transformation / pVI129
Expression de la transposase

Transformation / pVI110
Environ 10.000 integrants aléatoires
(tous transformants = integrants)

Croissance pendant 30 generations
=> perte de pVI129.
Vérification de la diversité des mutants

"Signature Tagged Mutagenesis" (STM) chez *L. casei*

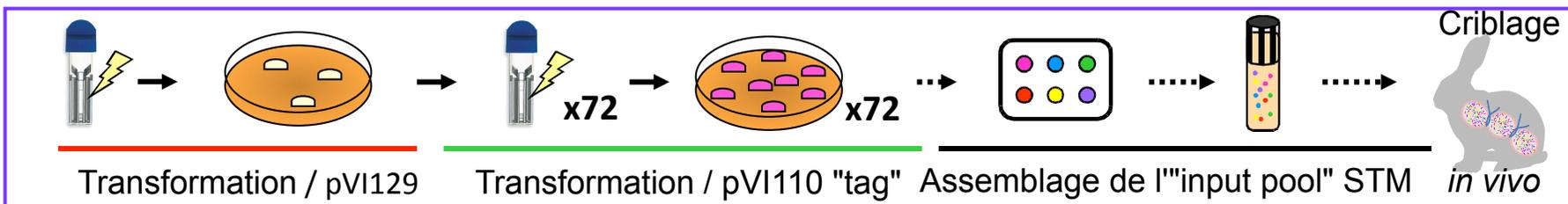
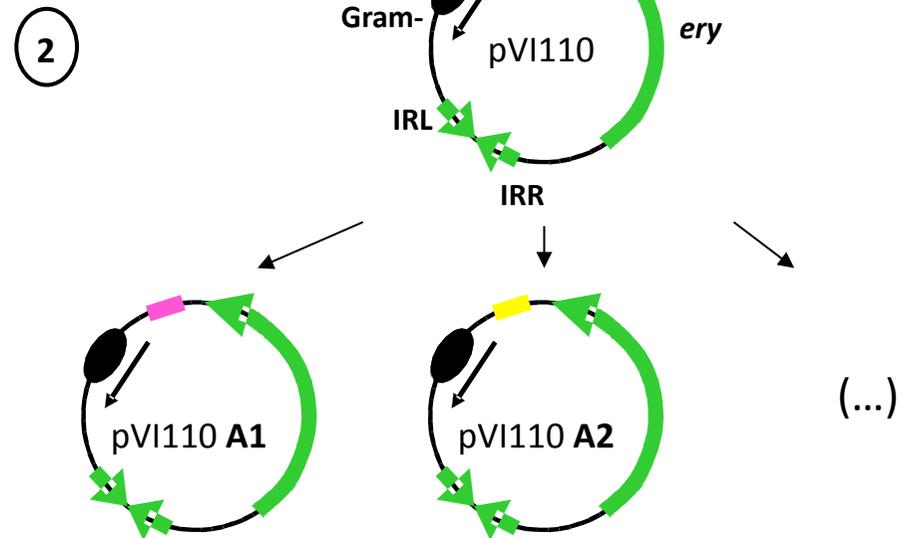
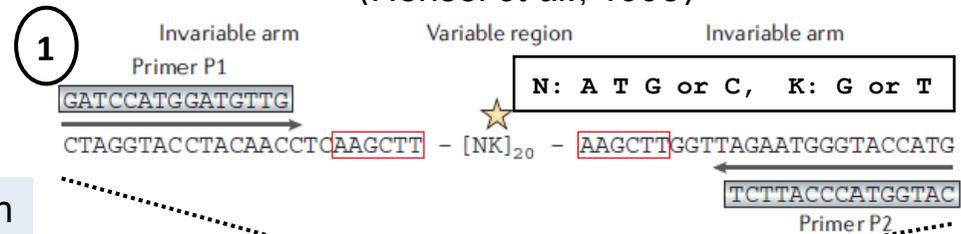
Librairie STM

96 "tags" sans cross-hybridation
(C. Tang and coll.)



Clonage de chaque "tag" dans pVI110 un par un

DNA "tags" (Chris Tang, CMMI, Imp. Coll. London)
(Hensel *et al.*, 1995)



Construction & assemblage d'une librairie "genome-wide" de mutants par transposition de *Lactobacillus casei* et analyse fonctionnelle *in vivo*

Librairie de 9250 mutants "taggés" aléatoires

Séquençage de toutes les cibles du Tn

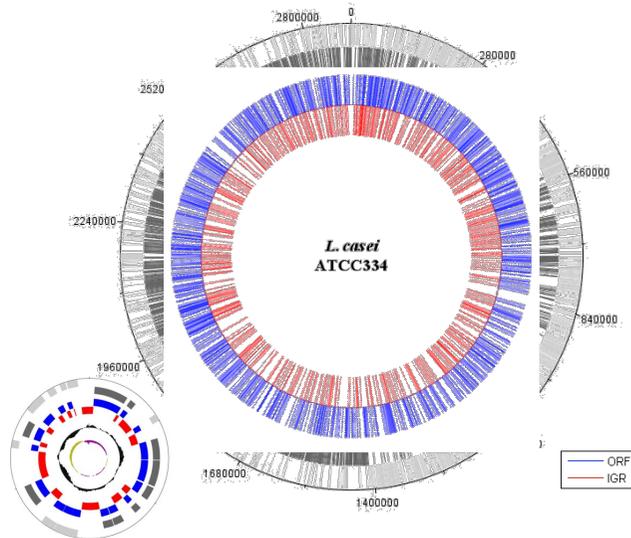
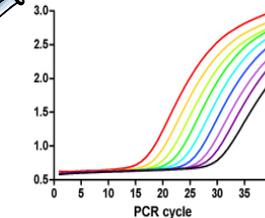
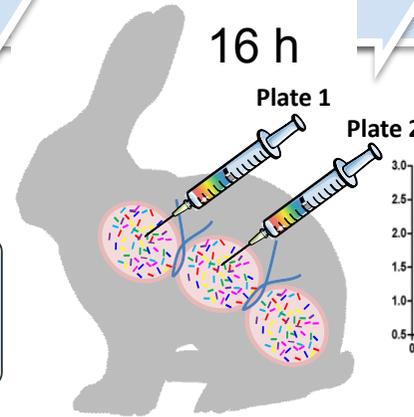
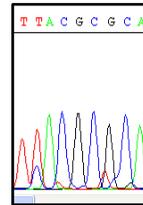
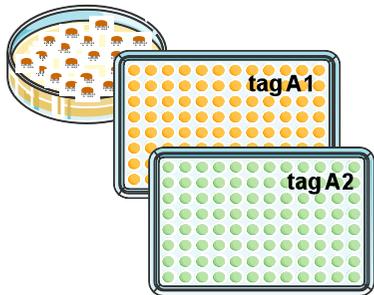
Sélection of 1110 unique mutants in ORFs

Challenge des pools de mutants, anse iléale ligaturée

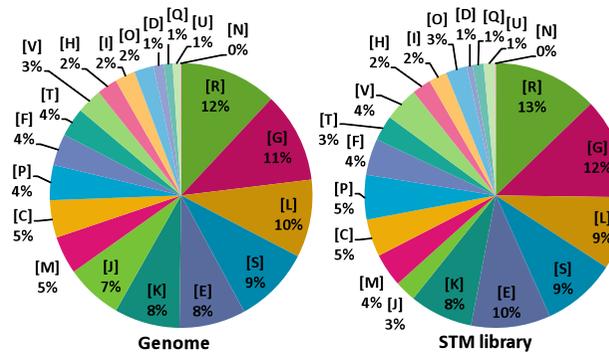
Quantification des mutants par qPCR

Sélection de mutants dont la quantité diminue d'au moins trois fois durant l'incubation de 16 h dans l'anse iléale

Identification de gènes impliqués dans l'établissement de *L. casei* dans l'intestin



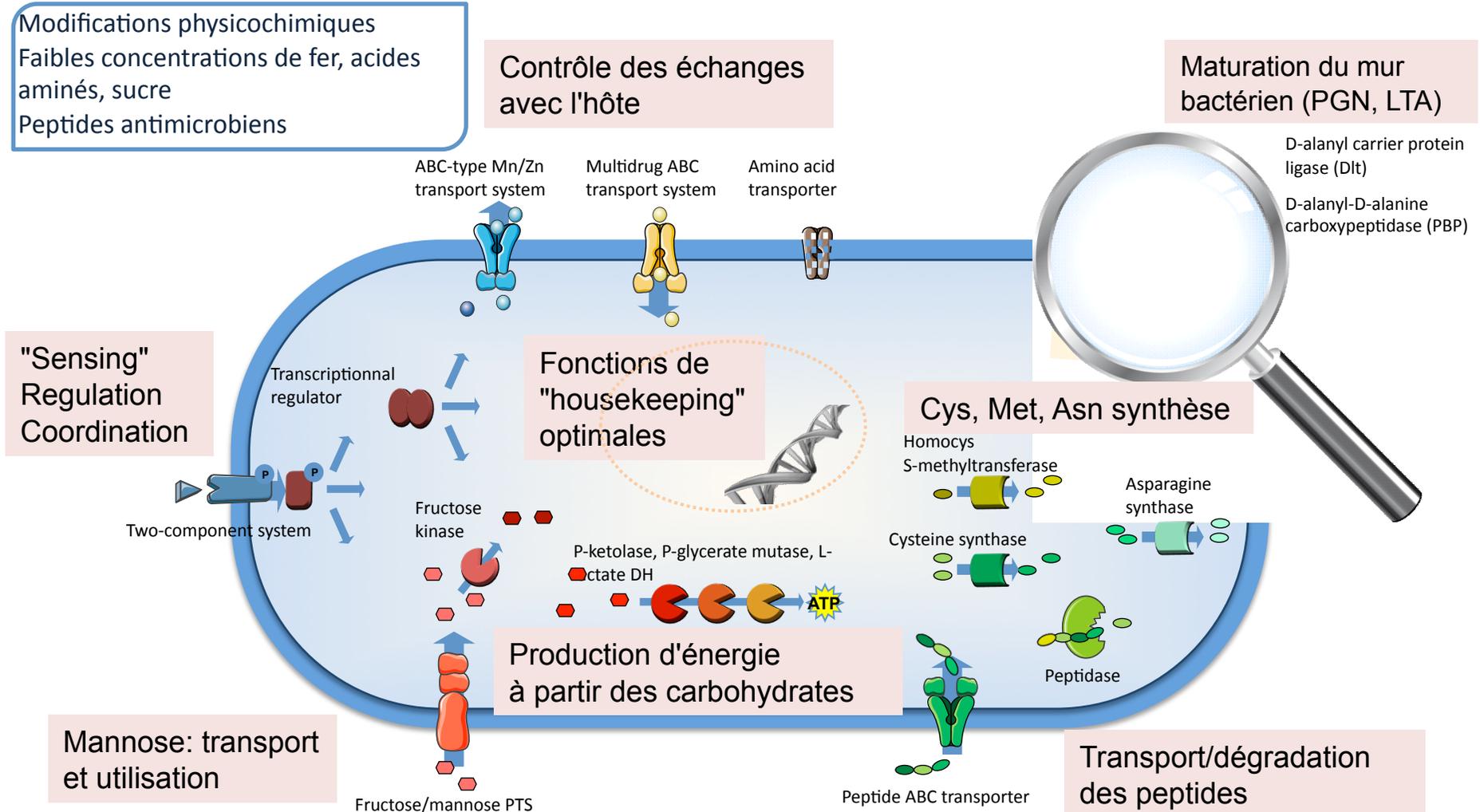
Distribution des sites d'insertion des transposons dans les 9250 mutants de *L. casei*



Librairie de 1110 ORFs mutants:

- La distribution des fonctions inactivées est similaire au génome (except for translation functions [J]).
- Couverture de ~50% des gènes non essentiels
- Tn sites identifiés

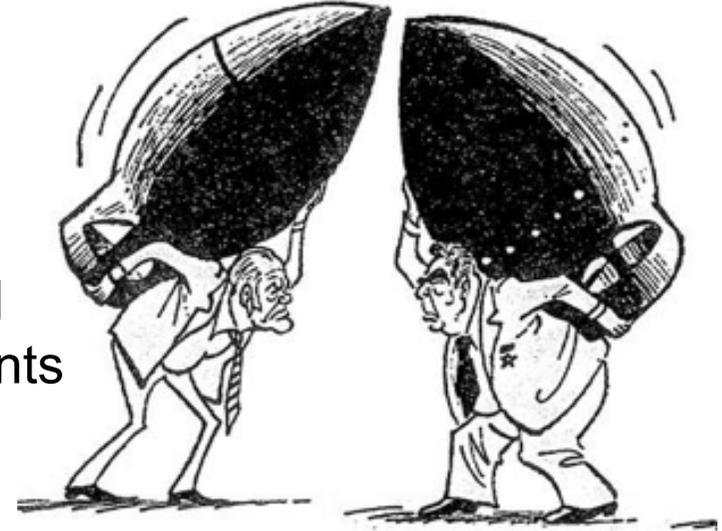
Fonctions essentielles nécessaires à l'établissement de *L. casei* dans l'intestin



- 64 gènes essentiels pour l'établissement dans l'intestin (mutants "perte de fonction")
- 3 gènes limitant l'établissement dans l'intestin (mutants "gain de fonction")

Course aux armements

L'effet de barrière n'est pas qu'un processus de privation des bactéries allogènes/pathogènes mal adaptées à l'environnement rencontré de nutriments essentiels à leur survie et croissance.



C'est aussi un vrai processus de compétition mettant en jeu des mécanismes d'attaque et de défense très sophistiqués.

Quatre grands mécanismes: " allélopathie" = production de molécules/métabolites toxiques pour empêcher la survie et multiplication des bactéries compétitrices dans une niche donnée.

- Métabolites bactériens toxiques, antibiotiques
- Colicines / résistance aux colicines
- Bactériophages / résistance aux bactériophages
- Appareils de sécrétion de type 6 (agresseurs / défenseurs)

Métabolites bactériens produits par les commensaux

Les acides gras à chaînes courtes (SCFA) produits par la fermentation des polysides complexes par certaines bactéries commensales comme *Bifidobacterium* inhibent la croissance de bactéries entéro-pathogènes:

S. typhimurium (Barthel & coll., 2003, Infect Immun)

EHEC (Fanning & coll., 2012, PNAS)

C. rodentium (Yoshimura & coll., 2010. Antonie van Leeuwenhoek)

Métabolites responsables:

Butyrate (Gantois I & coll., 2006, Appl Environment Microbiol)

Acetate et protection contre EHEC: *Bifidobacterium* agit en partie grâce à un gène codant pour un transporteur de sucres (ATP-binding cassette) entraînant la production accrue d'acétate, réduction de la perméabilité intestinale à la toxine SLT, effet antibactérien ?

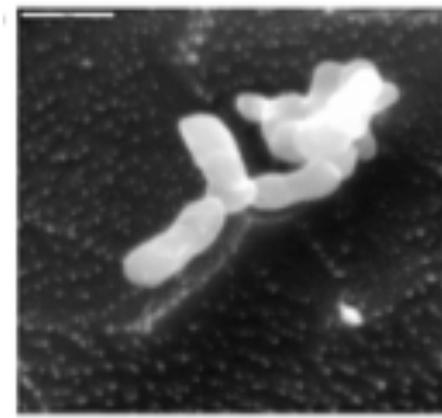
Domaine à élargir, y compris pour la compréhension de l'homéostasie.

LETTER

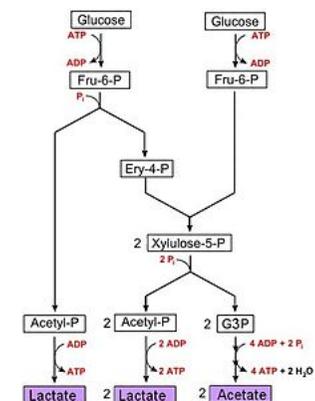
doi:10.1038/nature09646

Bifidobacteria can protect from enteropathogenic infection through production of acetate

Shinji Fukuda^{1,2}, Hidehiro Toh³, Koji Hase¹, Kenshiro Oshima⁴, Yumiko Nakanishi^{1,2,5}, Kazutoshi Yoshimura⁶, Toru Tobe⁷, Julie M. Clarke⁸, David L. Topping⁸, Tohru Suzuki⁹, Todd D. Taylor³, Kikuji Itoh⁶, Jun Kikuchi^{2,5,10}, Hidetoshi Morita¹¹, Masahira Hattori⁴ & Hiroshi Ohno^{1,2,12}



Bifidobacterium breve



Fermentation

Fukuda S et al. 2011. Nature, 469:543-547

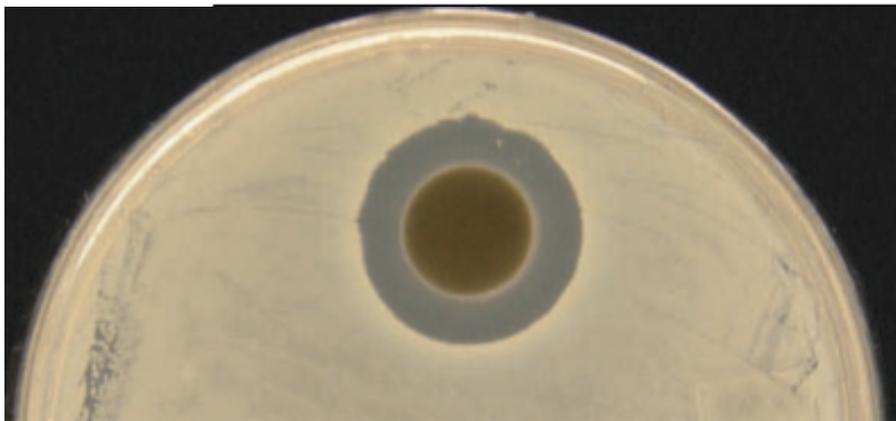


Published in final edited form as:
 Chem Rev. 2011 September 14; 111(9): 5492–5505. doi:10.1021/cr2000509.

Antibiotics as Signal Molecules

Diego Romero, Matthew F. Traxler, Daniel López¹, and Roberto Kolter^{*}
 Department of Microbiology and Molecular Genetics, Harvard Medical School, Boston, MA 02115

Antibiotiques: prédateurs ou régulateurs de l'homéostasie de la communauté microbienne



Tapis de *Bacillus subtilis*.
 Surnageant de *Burkholderia thailandensis* producteur d'antibiotiques

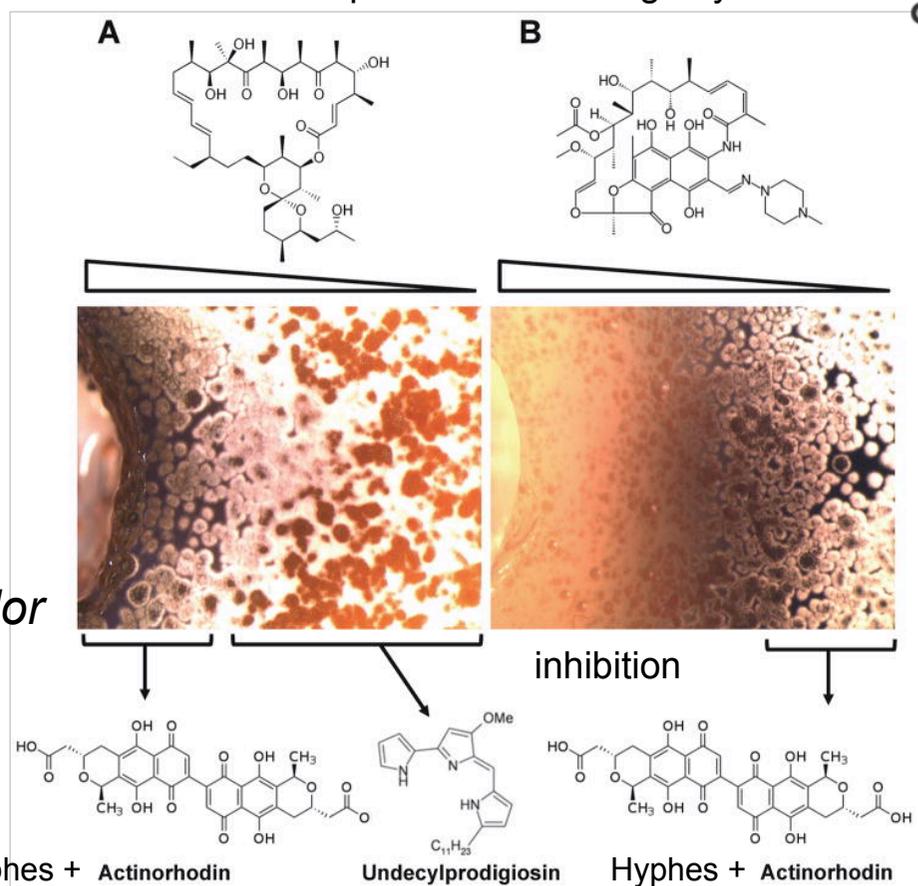
Streptomyces coelicolor

Rifampicine = inhibiteur transcription
 Oligomycine = inhibiteur ATP-synthase

Gradient

Rifampicine

Oligomycine



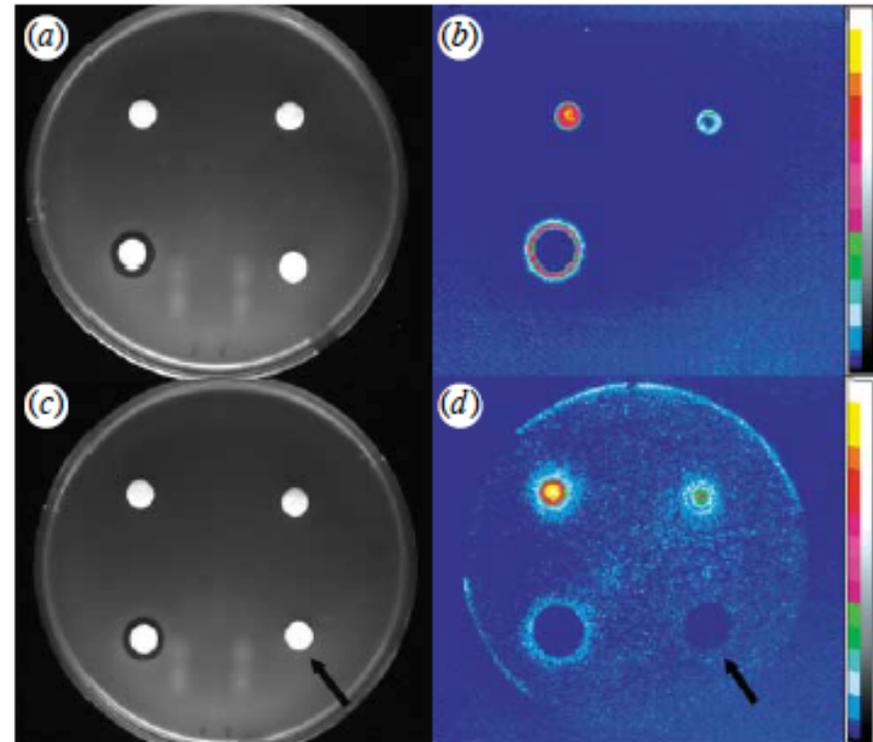
Antibiotics as signalling molecules

Grace Yim, Helena Huimi Wang and Julian Davies FRS*

*Department of Microbiology and Immunology, Life Sciences Institute, 2350 Health Sciences Mall,
University of British Columbia, Vancouver BC V6T 1Z3, Canada*

Majorité des composés organiques de petit poids moléculaire fabriqués et sécrétés par les microorganismes jouent un rôle de signalisation environnemental. Dans le très grand nombre identifié, très peu ont une vraie activité antimicrobienne de niveau thérapeutique. La plupart montrent une activité de régulation transcriptionnelle à très faible concentration.

Effet premier = régulation homéostasie populations microbiennes complexes ?
Equivalents autoinducteurs du QS ?



S. typhimurium, luxA-E opéron fusionné avec promoteur fad (métab. acides gras/ anaérobiose, a & b) et promoteur tsr (sérine chimiorécepteur, c & d).
Buvard: microcine, indolicidine, pleurocidine, CP26 (haut G & sens aiguilles montre)

Bactériocines / colicines

Bactériocines: peptides antimicrobiens produits par les bactéries qui ciblent un spectre étroit de bactéries compétitrices (Hammami & coll., 2013, Cell Mol Life Science).

La Thuricine CD dérivée de *Bacillus thuringiensis* cible des bactéries pathogènes mais a peu d'effet sur les commensaux établis (Rea & coll., 2010, PNAS; Rea MC & coll., 2014, Microbiology).

Quatre classes selon PM, structure, espèce d'origine, mécanismes de killing et de résistance

Colicines: les plus connues et les mieux étudiées, produites par des plasmides d'*E. coli* et bactéries apparentées, capables de tuer *E. coli* et bactéries apparentées.

Se lie à un récepteur de la membrane externe de la bactérie cible, utilisent ce récepteur pour transloquer à travers la membrane, et exercent leur cytotoxicité en dépolarisant la membrane cytoplasmique, souvent une activité DNase ou RNase, parfois une inhibition de la muréine (mur bactérien) (Cascales & coll., 2007, Microbiol & Mol Biol Rev)

Organisation des opérons / classification des Colicines

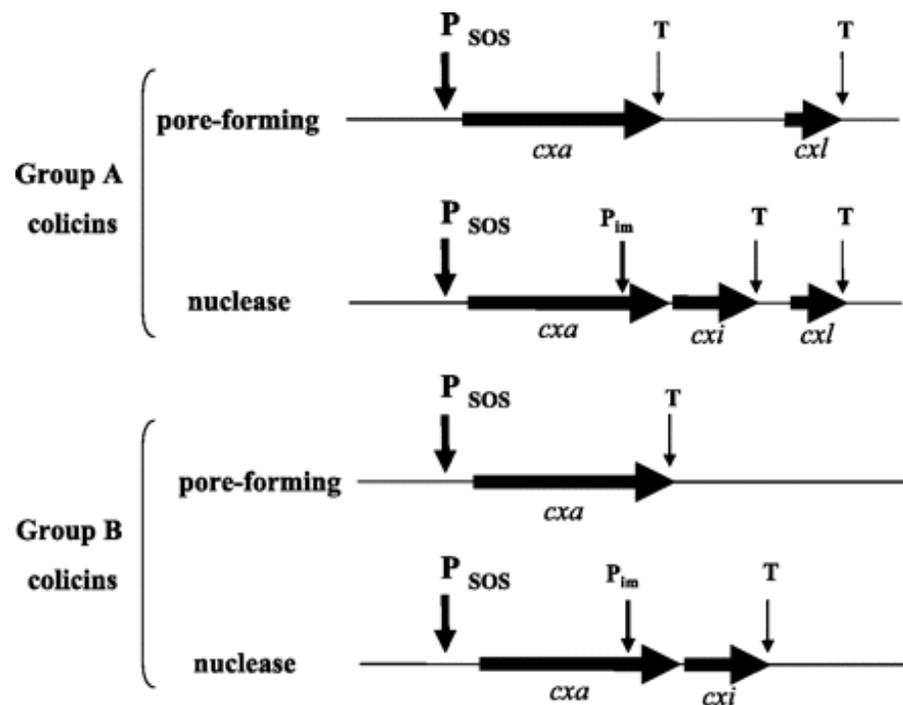


TABLE 1. Tol- and Ton-dependent imports: cell envelope proteins required for reception and translocation steps of colicins

Colicin	Receptor	Import	Cytotoxicity
Colicins^a			
Group A			
A	BtuB	OmpF, TolABQR	Pore
E1	BtuB	TolC, TolAQ	Pore
E2-E7-E8-E9	BtuB	OmpF, TolABQR	DNase
E3-E4-E6	BtuB	OmpF, TolABQR	16S RNase
E5	BtuB	OmpF, TolABQR	tRNA-(Y-H-N-D)-specific RNase
K	Tsx	OmpF, OmpA, TolABQR	Pore
N	OmpF	OmpF, TolAQR	Pore
U	OmpA	OmpF, TolABQR	Pore
Cloacin DF13	IutA	OmpF, TolAQR	16S RNase
Group B			
B	FepA	TonB-ExbBD	Pore
D	FepA	TonB-ExbBD	tRNA-(R)-specific RNase
Ia-Ib	Cir	TonB-ExbBD	Pore
M	PhuA	TonB-ExbBD	Degradation of the C55 phosphate-linked peptidoglycan precursors
5-10	Tsx	TolC, TonB-ExbBD	Pore

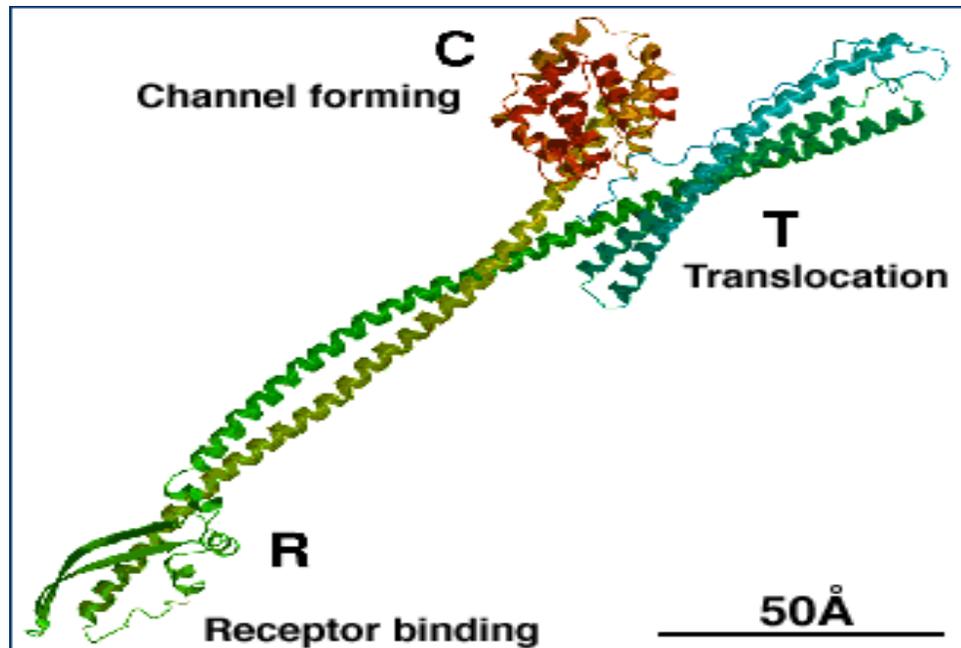
Relation structure-fonction des colicines

Les colicines sont des protéines transmembranaires qui dépolarisent la membrane cytoplasmique, entraînant une dissipation énergétique de la cellule.

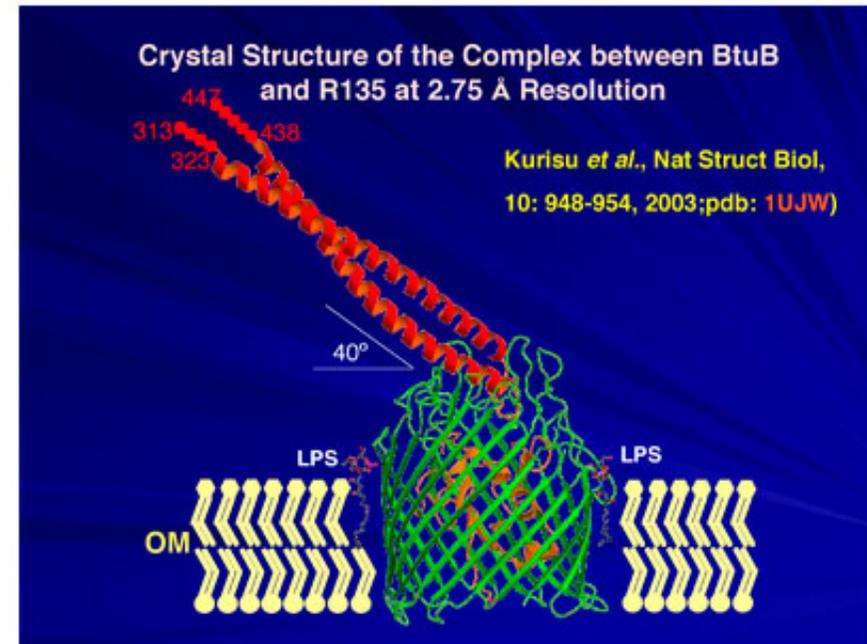
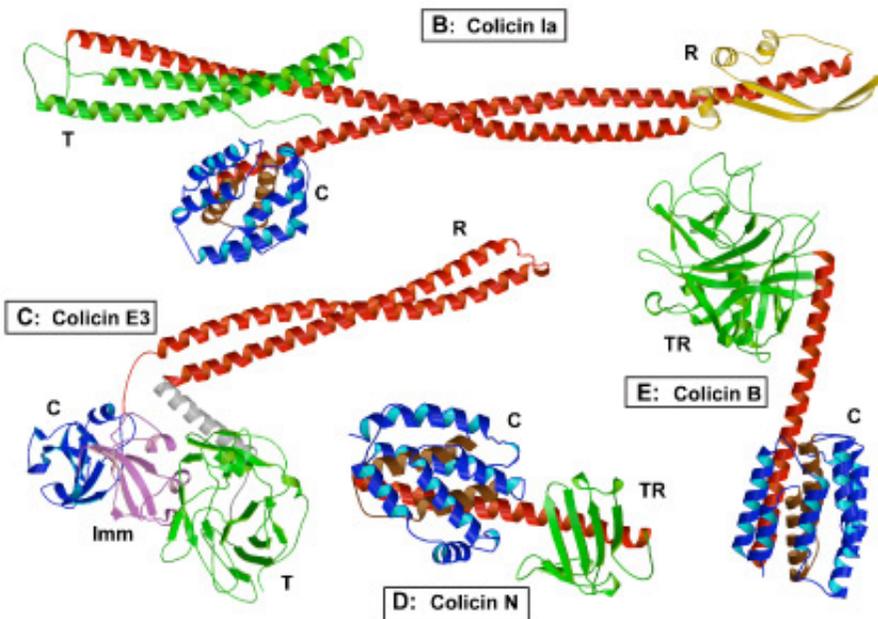
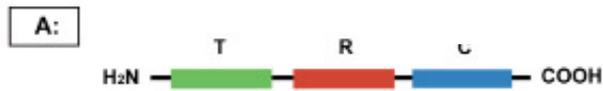
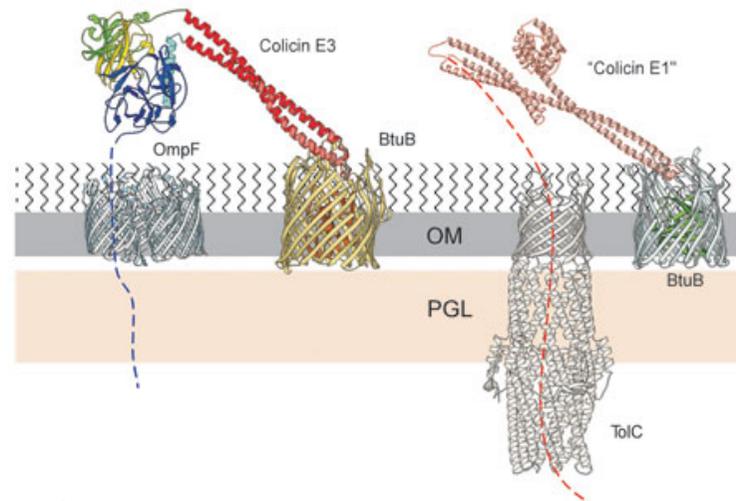
Les colicines comportent au moins trois domaines:

- N-terminal: passage de la membrane externe et du périplasme = deux récepteurs: liaison initiale (ex: BtuB, FhuA) et translocation (ex TolA-C ou TonB)
- Domaine central responsable de la reconnaissance des récepteurs
- Domaine C-terminal responsable de la formation du canal à travers la membrane cytoplasmique = killing domain (pore +/- activité nucléasique)

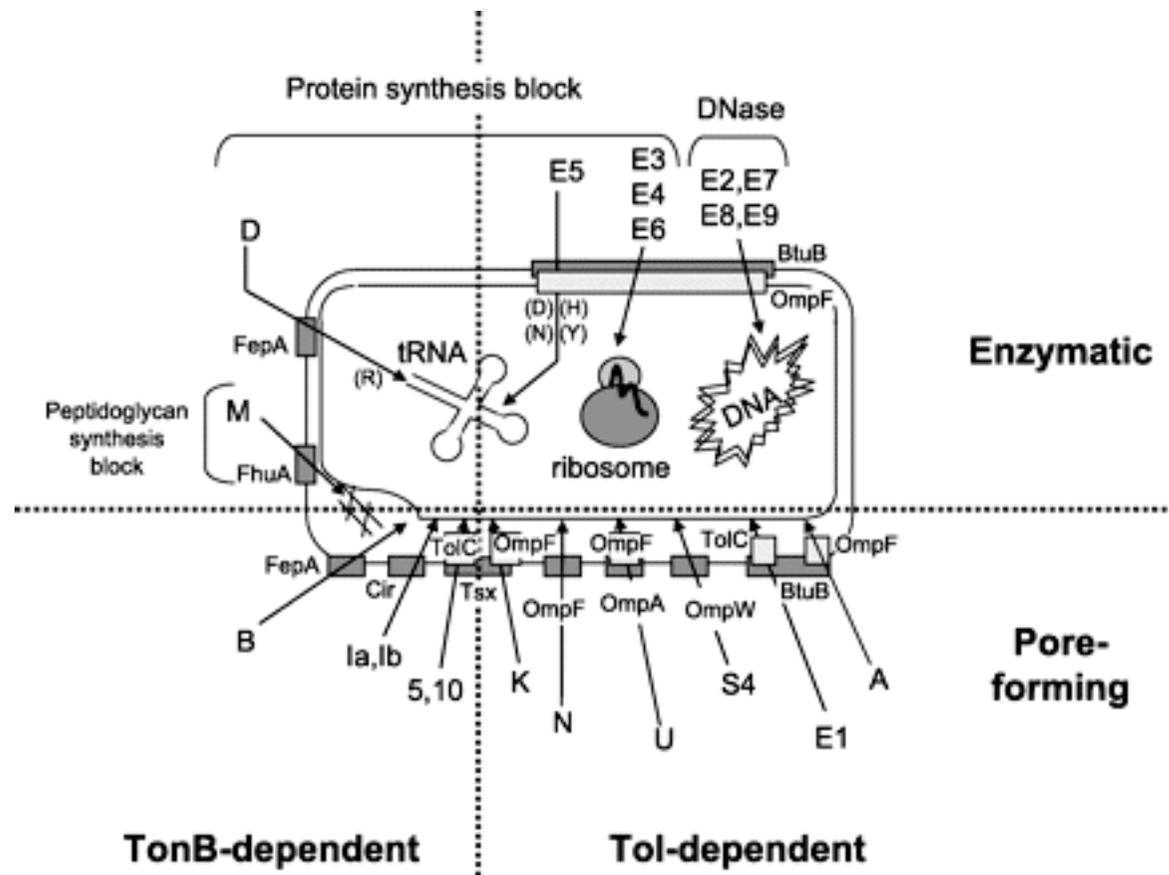
Partie C-terminale s'associe à la "protéine d'immunité" codée par le même opéron, empêchant le suicide de la bactérie productrice



Association colicine-recepteur de la membrane externe



Mode d'action des colicines



Résumé de la liaison, translocation et mode de "killing" des différentes colicines

Résistance aux colicines

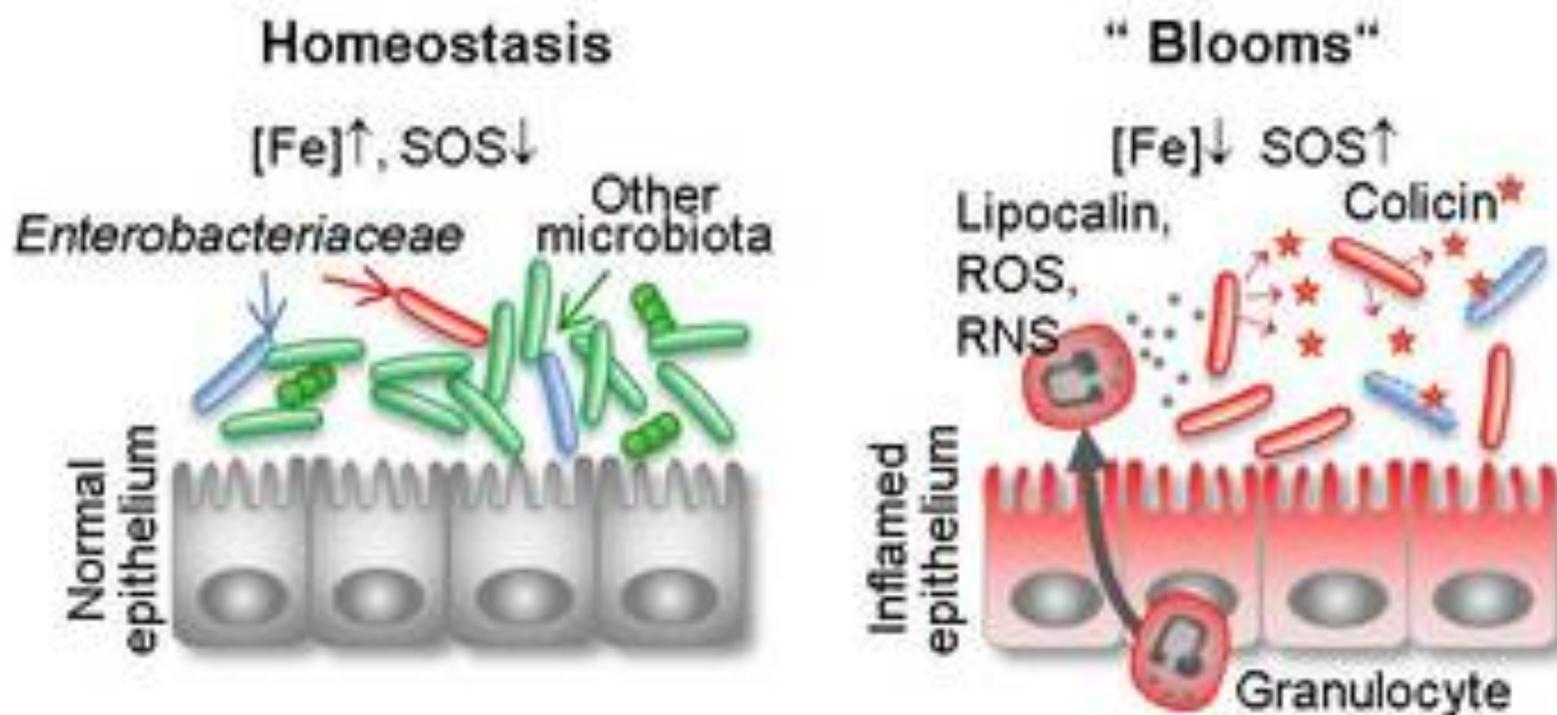
(Feldgarden & coll., 1998, Evolution; Cascales & coll., 2007, Microbiol Mol Biol Rev)

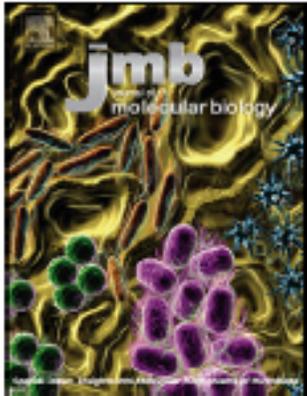
- Du fait du ciblage de récepteurs spécifiques, la bactérie peut acquérir la résistance à une colicine en mutant ce récepteur au niveau de la régulation de son expression ou de sa fonction.
"Fitness cost" du fait de l'impossibilité de transporter des nutriments (Fer) ou vitamines (Vit B12 = BtuB), mais survie ... (résistance vraie)
- Du fait de mutations affectant la machinerie de translocation (tolérance)

Inflammation Fuels Colicin Ib-Dependent Competition of *Salmonella* Serovar Typhimurium and *E. coli* in Enterobacterial Blooms

Lubov Petkova Nedialkova^{1,2,3}, Rémy Denzler^{3,4}, Martin B. Koeppel^{1,2}, Manuel Diehl^{1,2}, Diana Ring^{1,2}, Thorsten Wille⁴, Roman G. Gerlach⁴, Bärbel Stecher^{1,2*}

1 Max-von-Pettenkofer Institute, LMU Munich, Munich, Germany, **2** German Center for Infection Research (DZIF), partner site LMU Munich, Munich, Germany, **3** Institute of Microbiology, ETH Zürich, Zürich, Switzerland, **4** Robert Koch-Institut, Wernigerode Branch, Junior Research Group 3, Wernigerode, Germany





Molecular Bases and Role of Viruses in the Human Microbiome

Shira R. Abeles¹ and David T. Pride^{1,2}

1 - Department of Medicine, University of California, San Diego, CA 92093, USA

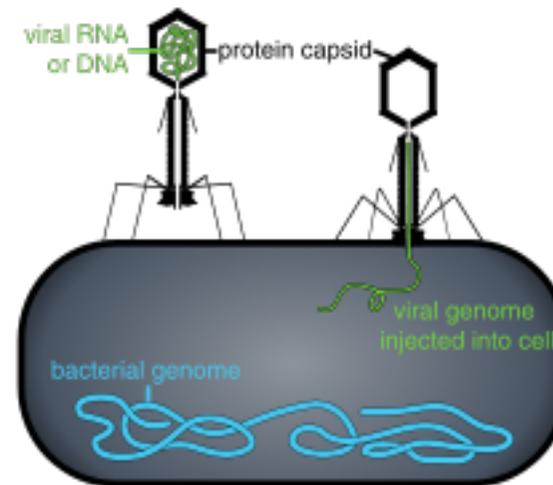
2 - Department of Pathology, University of California, San Diego, CA 92093, USA

Correspondence to David T. Pride: Department of Pathology, University of California, San Diego, CA 92093, USA.

dpride@ucsd.edu

<http://dx.doi.org/10.1016/j.jmb.2014.07.002>

Edited by J. L. Sonnenburg



Bactériophages

Environ 10^{31} bactériophages et 10^{30} bactéries sur la planète (Whitman & coll, 1998)

10^{22} - 10^{24} étoiles dans l'univers (Dokkum & Conroy, 2010)

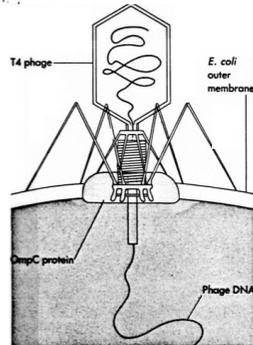
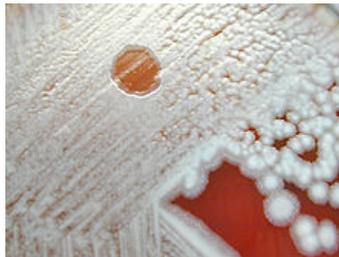
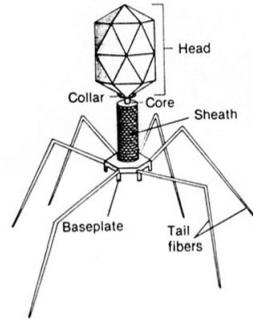
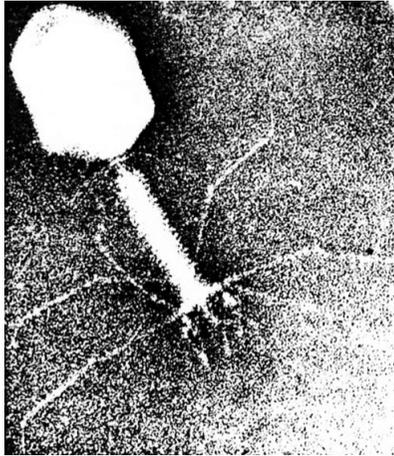
Bactériophages présents dans toutes les niches écologiques.

Ils représentent un vecteur important d'échange de matériel génétique à l'échelle des populations microbiennes de la planète et assurent sans doute une partie importante du flux de gènes au sein du microbiote intestinal (Oliver & coll, 2009; Chen & coll, 2009; Modi & coll, 2013)

Les bactériophages s'attachent à la surface des bactéries, y introduisent leur génome qui se réplique dans la cellule procaryote et éventuellement la lysent.

On considère que du fait des bactériophages, la moitié des bactéries de la biosphère est renouvelée toutes les 48 h...

Cycle infectieux d'un bactériophage



Bactériophages: nombre et variété énorme dans l'intestin. Virome de l'intestin pour l'essentiel = bactériophages. Nb bactéries x 10 (Minot & coll., 2011, Genome Res)

A composite bacteriophage alters colonization by an intestinal commensal bacterium

Breck A. Duerkop^a, Charmaine V. Clements^b, Darcy Rollins^b, Jorge L. M. Rodrigues^c, and Lora V. Hooper^{a,b,1}

^aDepartment of Immunology and ^bThe Howard Hughes Medical Institute, University of Texas Southwestern Medical Center, Dallas, TX 75390; and ^cDepartment of Biology, University of Texas, Arlington, TX 76019

Edited* by Mary K. Estes, Baylor College of Medicine, Houston, TX, and approved September 4, 2012 (received for review April 18, 2012)

The mammalian intestine is home to a dense community of bacteria and its associated bacteriophage (phage). Virtually noth- integrated prophages varies among strains (8, 11). Although prophages are common in *E. faecalis*, their biological roles are

Bacteriophage isolé de *Enterococcus faecalis* confère à cette souche un avantage compétitif sur des bactéries de la même espèce n'ayant pas ce bactériophage (Duerkop BA & coll., 2012, PNAS).

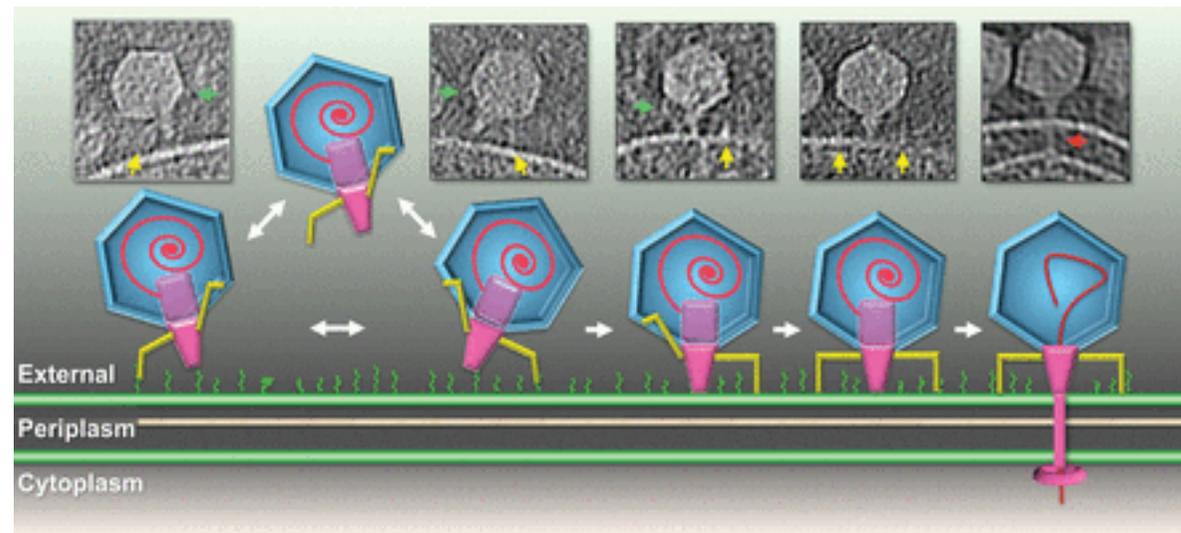
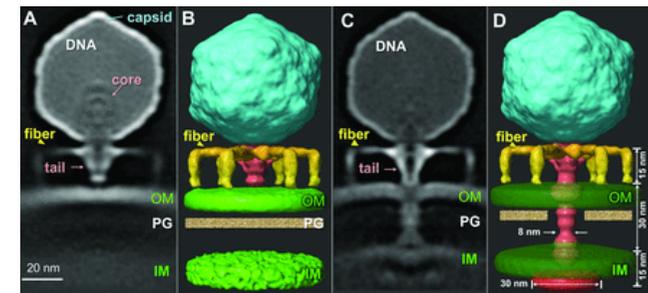
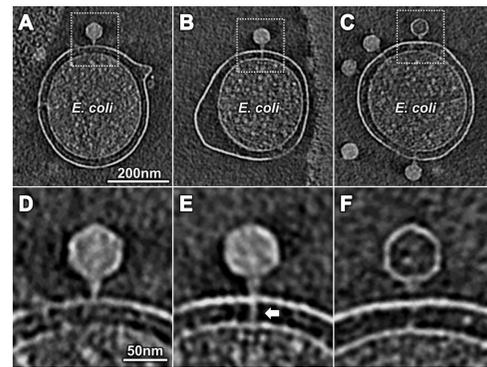
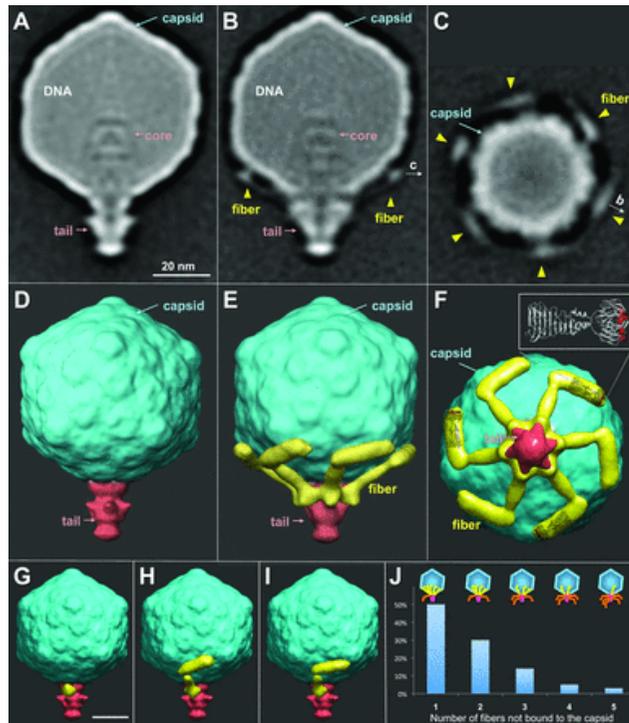
Mécanismes mal définis

Formatage des communautés bactériennes de l'intestin. Facilitation d'invasion d'un pathogène.

The Bacteriophage T7 Virion Undergoes Extensive Structural Remodeling During Infection

Bo Hu,¹ William Margolin,² Ian J. Molineux,^{3*} Jun Liu^{1*}

1 FEBRUARY 576 2013 VOL 339 SCIENCE



Mécanismes de défense des bactéries contre les bactériophages

Les bactéries ont développé de nombreuses stratégies pour résister à l'attaque par les bactériophages, ce qui a sans doute contribué à la constitution d'une immense diversité.

La première étape de l'interaction phage-bactérie implique la reconnaissance par le bactériophage d'un récepteur à la surface de la bactérie.

En réponse à ce mécanisme d'adsorption/adhésion des phages lytiques, les bactéries ont développé des stratégies d'évitement:

- Variation de phase des récepteurs
- Production d'une capsule/matrice extracellulaire masquant le récepteur.

Altération du récepteur (Labrie & coll, 2010).

Une fois le génome du bactériophage introduit dans la bactérie les systèmes de restriction-modification sont capables de le dégrader (Roberts & coll, 2010).

Concerne 92 % des génomes bactériens étudiés.

A la suite du cycle infectieux du bactériophage, seulement une fraction des bactéries va subir une lyse, limitant ainsi la replication du phage (comportement altruiste) (Fineran & coll, 2009)

Une mémoire "immunitaire" antiphage chez les bactéries: CRISPR-Cas

Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats

CRISPR-Cas : des segments du génome bactérien incorporent des séquences courtes du génome des bactériophages précédents, constituant une véritable mémoire du "passage" de ces phages

= **phase d'adaptation**

Notion de "spacers"

Ces segments de génome de bactériophages interceptés sont ensuite capables d'interférer avec la replication génomique d'un bactériophage ultérieur

(Stern & coll, 1985; Garneau et coll, 2010, Nature)

= phase de protection

Emmanuelle Charpentier & Jennifer Dubna

CRISPR-Cas: deux étapes dans l'immunité antiphage des bactéries

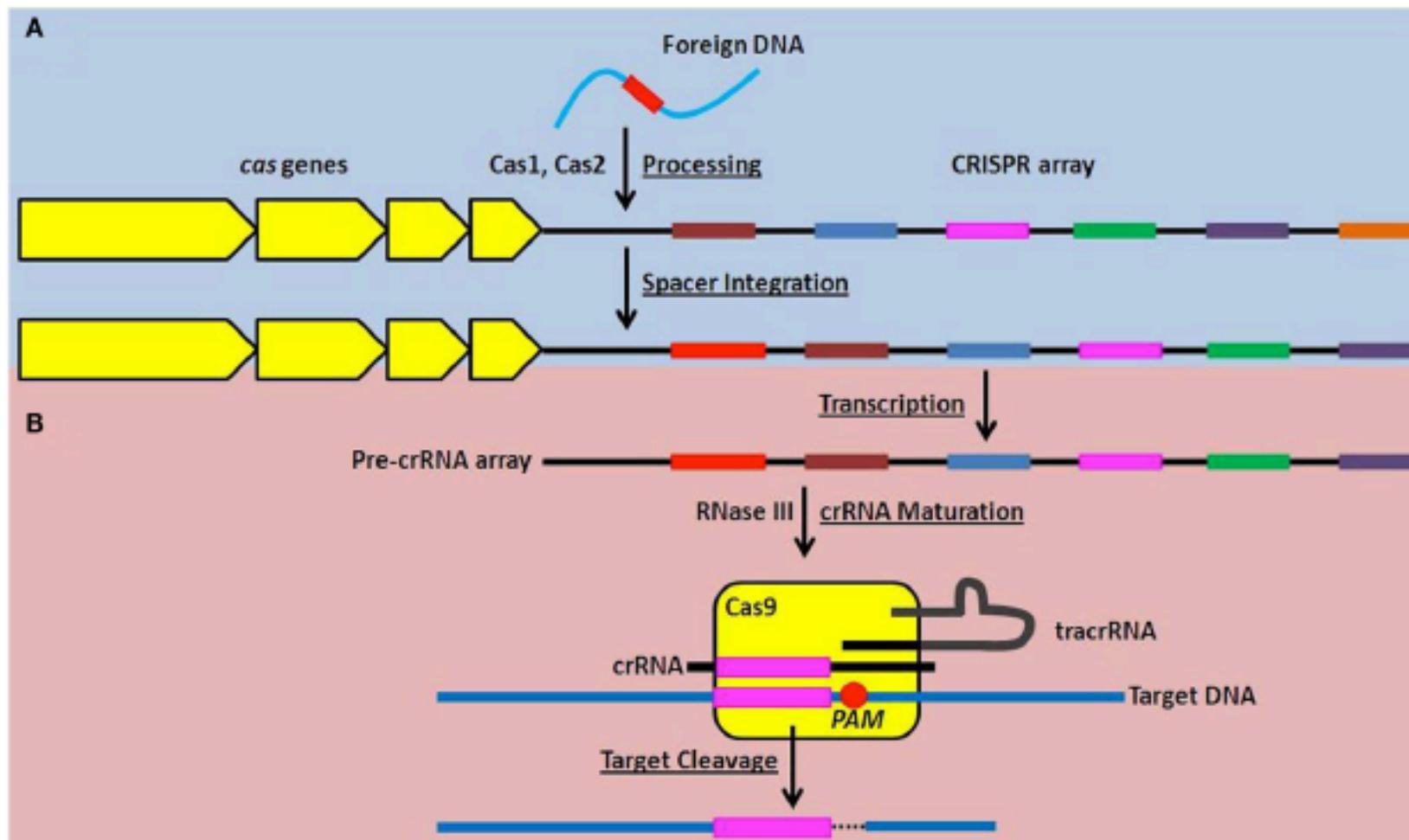


FIGURE 1 | Function of the Type II CRISPR-Cas system in adaptive nucleic acid restriction. (A) Foreign DNA is recognized by Cas1 and Cas2 and is processed into a new spacer sequence (red) within the CRISPR array (Adaptation phase, blue). **(B)** To restrict foreign DNA, the CRISPR array is transcribed as a single transcript (pre-crRNA array) and matured into small targeting crRNAs in a

process requiring RNase III and tracrRNA. The dsRNA complex of crRNA and tracrRNA is associated with Cas9 and the spacer sequence within the crRNA can hybridize to complementary DNA sequences. Cas9 then mediates cleavage of the targeted DNA downstream of the proto-spacer adjacent motif, or PAM, highlighted by the red circle (Effector phase, pink).



Available online at www.sciencedirect.com

SciVerse ScienceDirect

Current Opinion in
Microbiology

T6SS

Deadly syringes: type VI secretion system activities in pathogenicity and interbacterial competition

Nicole Kapitein and Axel Mogk

F1000Prime
REPORTS

Published: 03 December 2013
© 2013 Faculty of 1000 Ltd

The rise of the Type VI secretion system

Alain Filloux

Address: Imperial College London, Department of Life Sciences, MRC Centre for Molecular Bacteriology and Infection, South Kensington Campus, Howers Building, London SW7 2AZ, UK

Email: a.filloux@imperial.ac.uk

F1000Prime Reports 2013, 5:52 (doi:10.12703/P5-52)

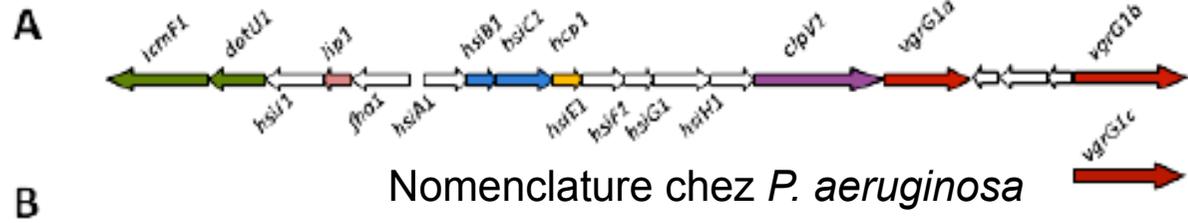
Appareil de sécrétion de type 6 (T6SS):

Attaque/défense directe contre des bactéries hétérologues.

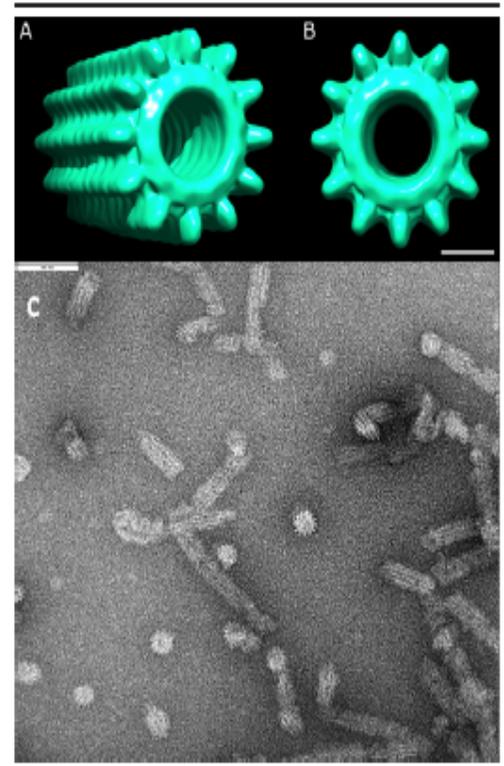
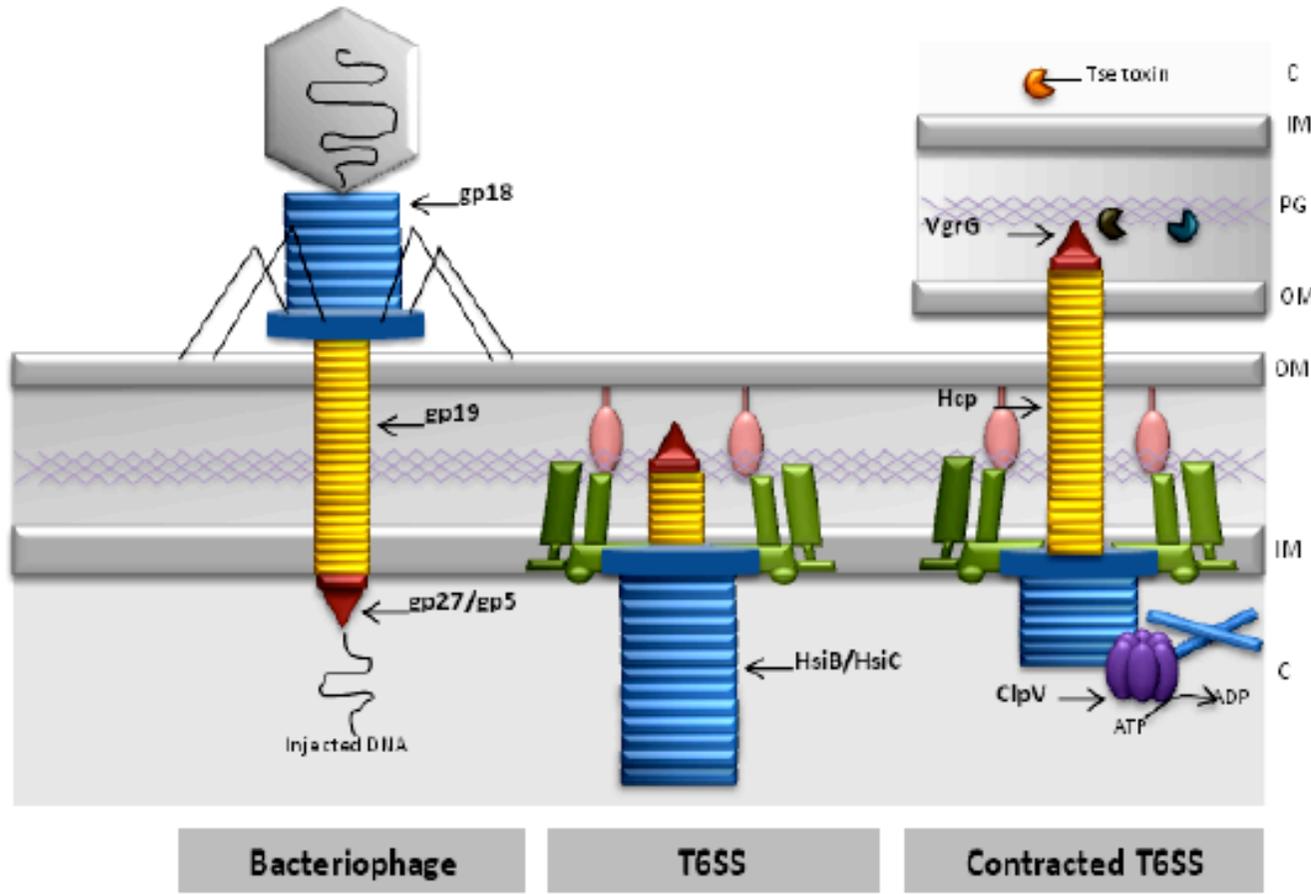
Système pénétrant la paroi/membrane de la bactérie cible et y injectant des effecteurs.

Peut aussi cibler les cellules eucaryotes (Basler & coll., 2012, Science)

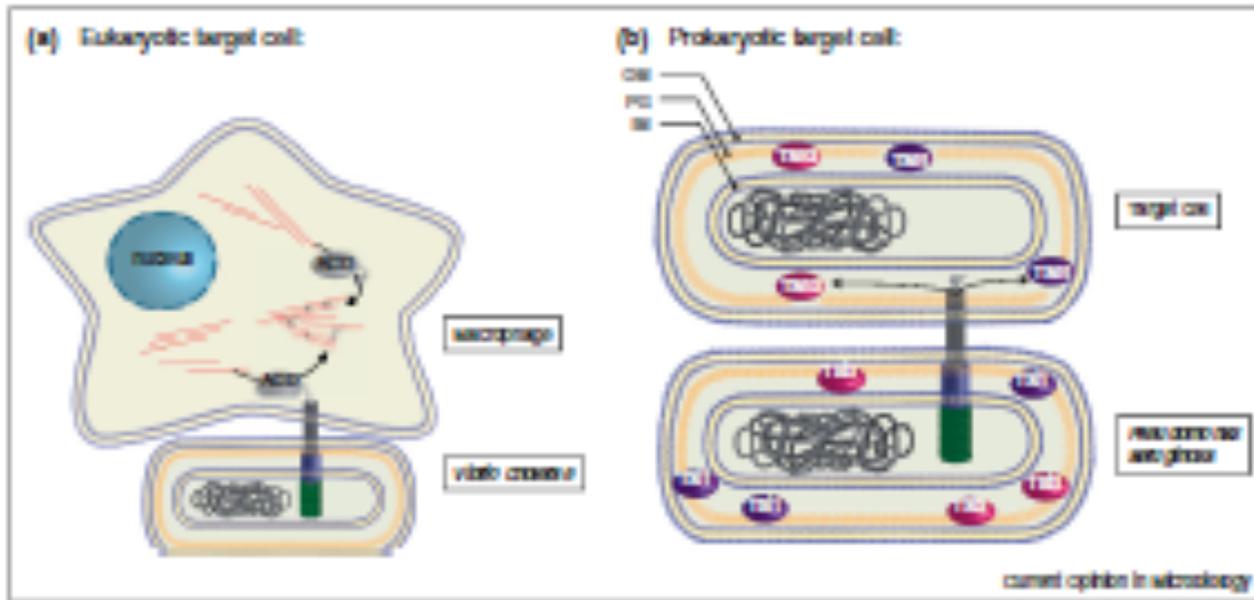
Appareil de sécrétion de type 6 (T6SS), similarité fonctionnelle avec le bactériophage



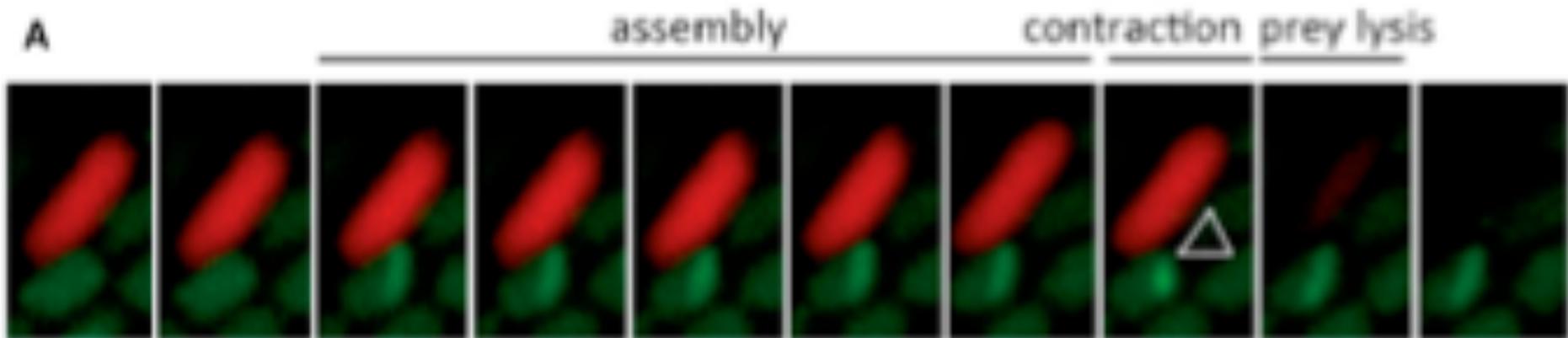
Structure de la gaine ("tail sheath-like") du T6SS



T6SS: "le baiser de la mort"



Katitein & Mogk, 2013,
Current Opin Microbiol



Bactérie prédatrice: TssB-sfGFP (vert) = contraction T6SS`
Bactérie proie: mCherry (rouge)

Cascales & coll, 2013, Cell Reports



T6SS: le duel

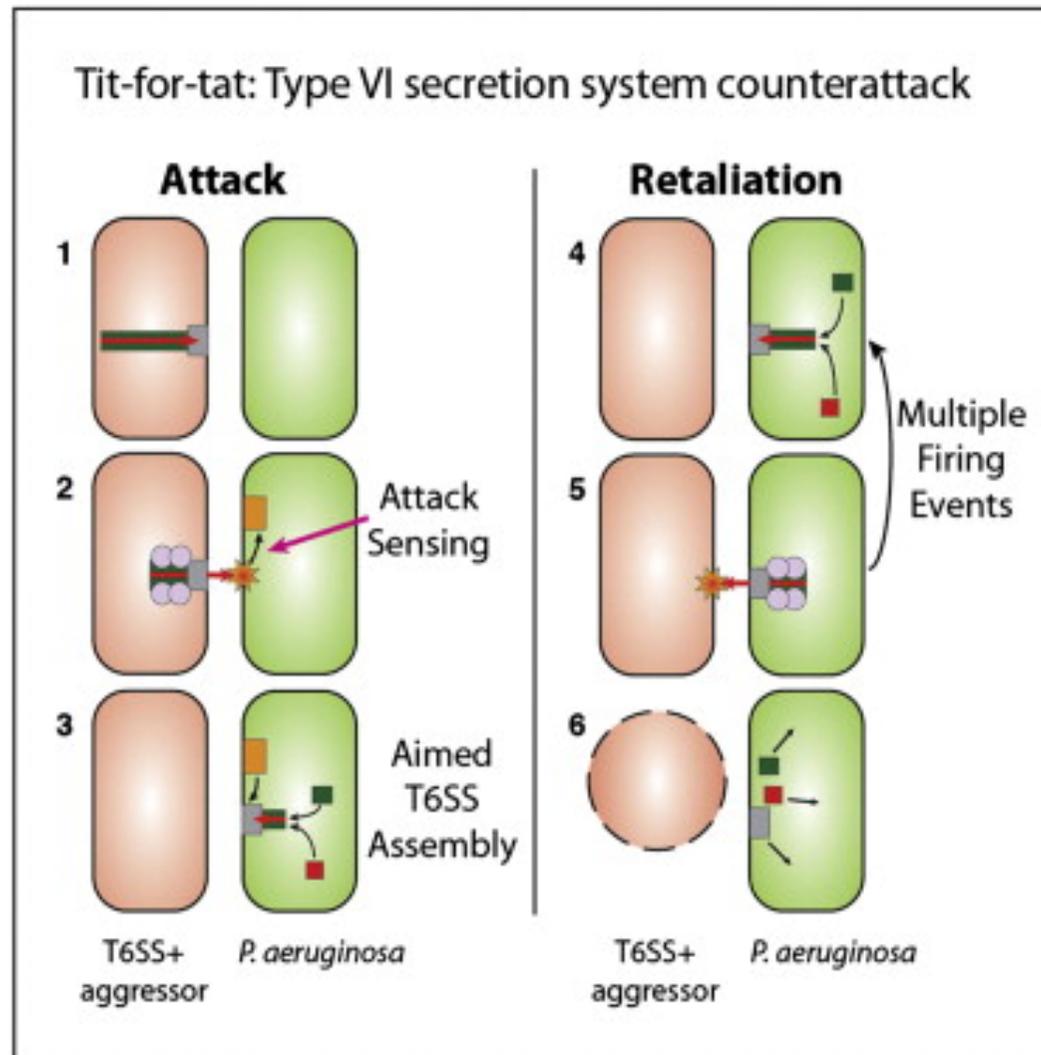
Tit-for-Tat: Type VI Secretion System Counterattack during Bacterial Cell-Cell Interactions

Marek Basler,¹ Brian T. Ho,¹ and John J. Mekalanos^{1,*}

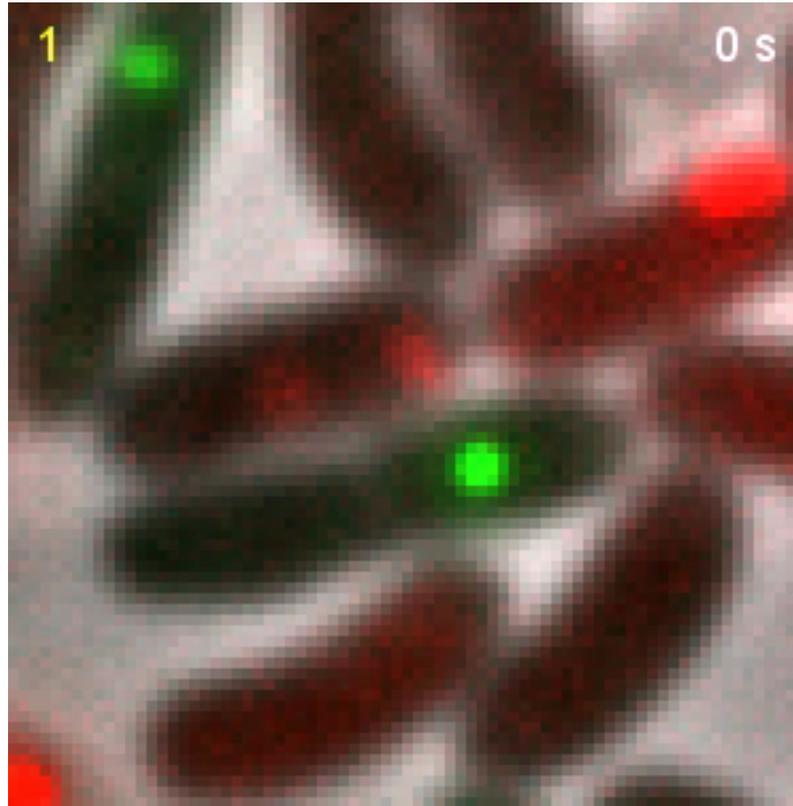
¹Department of Microbiology and Immunobiology, Harvard Medical School, 77 Avenue Louis Pasteur, Boston, MA 02115, USA

*Correspondence: john_mekalanos@hms.harvard.edu

<http://dx.doi.org/10.1016/j.cell.2013.01.042>



Duel des T6SS: *V. cholerae* – *P. aeruginosa*



Duel: régulation de la réponse du T6SS de *P. aeruginosa* en réponse à l'attaque par le T6SS de *V. cholerae*

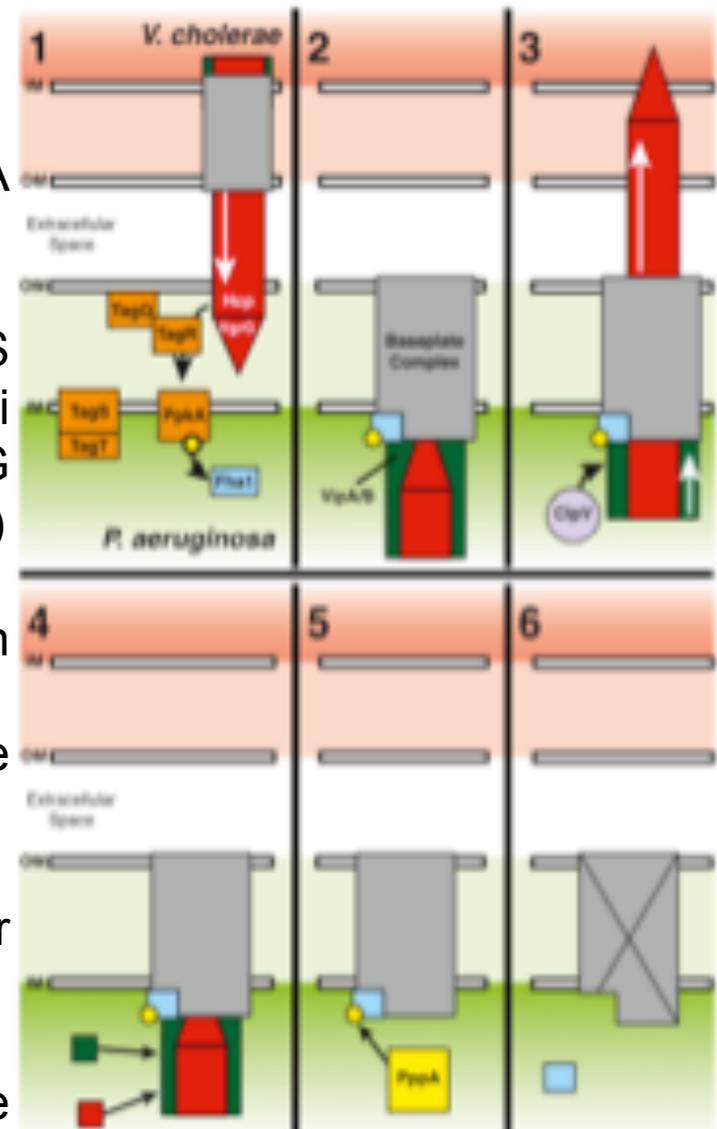
A1 - Attaque du T6SS de *V. cholerae* perçue par le complexe de signalisation TagQRST/PpkA de *P. aeruginosa* (orange). Activation de la kinase PpkA entraîne la phosphorylation de Fha1 (bleu).

A2 – Fha1-P interagit avec le complexe basal du T6SS de *P. aeruginosa* (gris), le fixant et permettant ainsi assemblage du complexe "tube-aiguille" Hcp/VgrG (rouge) et contraction de la gaine VlpA/B (HsiB/C, vert)

A3 – La contraction de la gaine permet la mobilisation du complexe d'attaque de *P. aeruginosa* contre *V. cholerae*. ClpV (violet clair) entraîne le désassemblage de la gaine contractile.

A4 – Le complexe basal peut être réutilisé pour assembler un nouveau complexe d'attaque.

A5 – La phosphatase PppA (jaune) déphosphoryle Fha1, inactivant ou désassemblant le complexe basal.





Tn-Seq Analysis of *Vibrio cholerae* Intestinal Colonization Reveals a Role for T6SS-Mediated Antibacterial Activity in the Host

Yang Fu,^{1,2} Matthew K. Waldor,^{1,3,*} and John J. Mekalanos^{1,*}

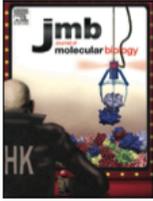
¹Department of Microbiology and Immunobiology, Harvard Medical School, 77 Avenue Louis Pasteur, Boston, MA 02115, USA

²College of Life Science, Nankai University, 94 Weijin Road, Tianjin 300071, China

³Division of Infectious Disease, Brigham & Women's Hospital, and Howard Hughes Medical Institute, Boston, MA 02115, USA

*Correspondence: mwaldor@research.bwh.harvard.edu (M.K.W.), john_mekalanos@hms.harvard.edu (J.J.M.)

<http://dx.doi.org/10.1016/j.chom.2013.11.001>



Synthetic Ecology of Microbes: Mathematical Models and Applications

Ali R. Zomorodi¹ and Daniel Segrè^{1,2,3}

1 - Bioinformatics Program, Boston University, Boston, MA

2 - Department of Biology, Boston University, Boston, MA

3 - Department of Biomedical Engineering, Boston University, Boston, MA

Correspondence to Daniel Segrè: at: 44 Cummington Mall, LSEB 909 Boston, MA 02215, USA. dsegre@bu.edu

<http://dx.doi.org/10.1016/j.jmb.2015.10.019>

Edited by I B. Holland

Communautés microbiennes synthétiques: défis et opportunités

Essentiel pour assurer la durabilité des environnements mais aussi en santé humaine et animale

Déchiffrement des mécanismes assurant la fonction, la dynamique et l'évolution des écosystèmes microbiens

Ecosystèmes microbiens et écologie:

Algorithmes computationnels mieux adaptés et plus efficaces

Meilleure intégration de méthodes empiriques et d'analyse "hypothesis-driven"

Amélioration des performances dans l'annotation des génomes

Etablissement de bibliothèques standardisées de microorganismes bien caractérisés utilisés comme "building blocks" des communautés microbiennes synthétiques à construire

17h15 - Intervention Jeune Chercheur :
Streptococcus gallolyticus, bactériocine et cancer
colique, cherchez le coupable

Laetitia Aymeric

Unité de Pathogénie Microbienne Moléculaire &
Unité INSERM 1202, Institut Pasteur

17h30 – Séminaire:

Communautés microbiennes complexes et défi de
l'adaptation à l'environnement : l'union fait la force

Puri Lopez-Garcia

Diversité et Evolution Microbienne
Ecologie, Systématique Evolution
CNRS & Université Paris Sud