

Contrôle du cytosquelette cellulaire par les pathogènes

Philippe J. Sansonetti

Leçon #1

Collège de France

08 décembre 2011



Le cytosquelette des cellules eucaryotes joue un rôle essentiel dans l'interaction hôte-pathogène et apparaît de fait comme une cible privilégiée des bactéries pathogènes.

Grandes fonctions du cytosquelette:

- Barrière épithéliale / endothéliale (prévention invasion-dissémination des pathogènes)
- Cellules immunitaires: migration, phagocytose, formation de la synapse immunologique, présentation des antigènes, signalisation

Cible idéale pour déstabiliser une cellule dans sa globalité ou dans certaines fonctions spécifiques voire pour lui faire effectuer des fonctions auxquelles elle n'est pas dédiée:

- **Globalité:** adhésion matrice, adhésion intercellulaire, motilité
- **Fonctions spécifiques:** endocytose, phagocytose, etc..
- **invasion** de cellules non phagocytaires

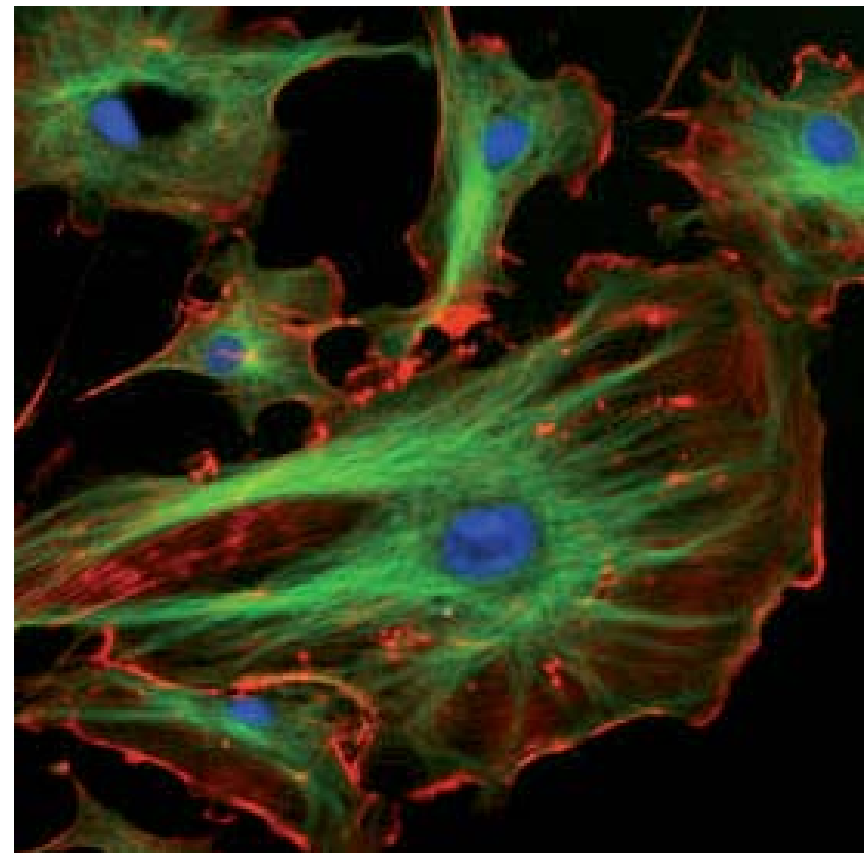
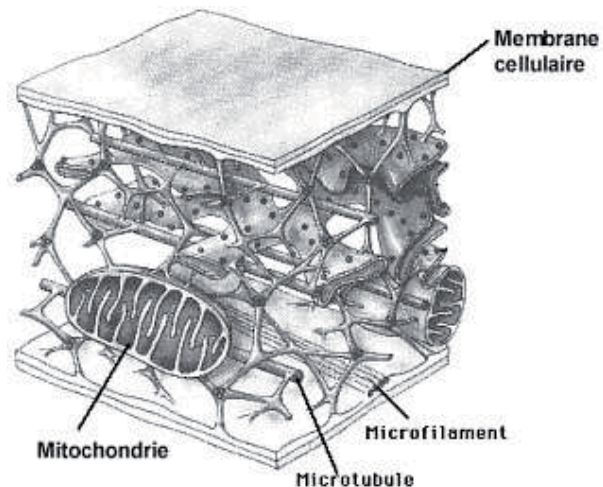
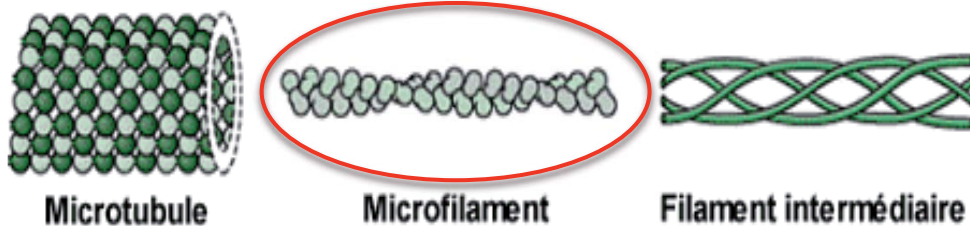
Structure du cytosquelette cellulaire

Le cytosquelette est un réseau filamenteux à l'intérieur d'une cellule, lui conférant ses propriétés mécaniques.

Chez les eucaryotes, il est composé de plusieurs types de filaments

- Filaments « souples » (actine polymérisée)
- Microtubules rigides (tubuline)
- Filaments intermédiaires (cytokératines)

■ Actin ■ Tubuline ■ DAPI



Grandes fonctions de l'actine dans la cellule

Structure, mobilité, force, transport

Former des microfilaments assurant un soutien mécanique aux cellules et leur fournissant des voies de trafic à travers le cytoplasme en soutien à la transduction de certains signaux.

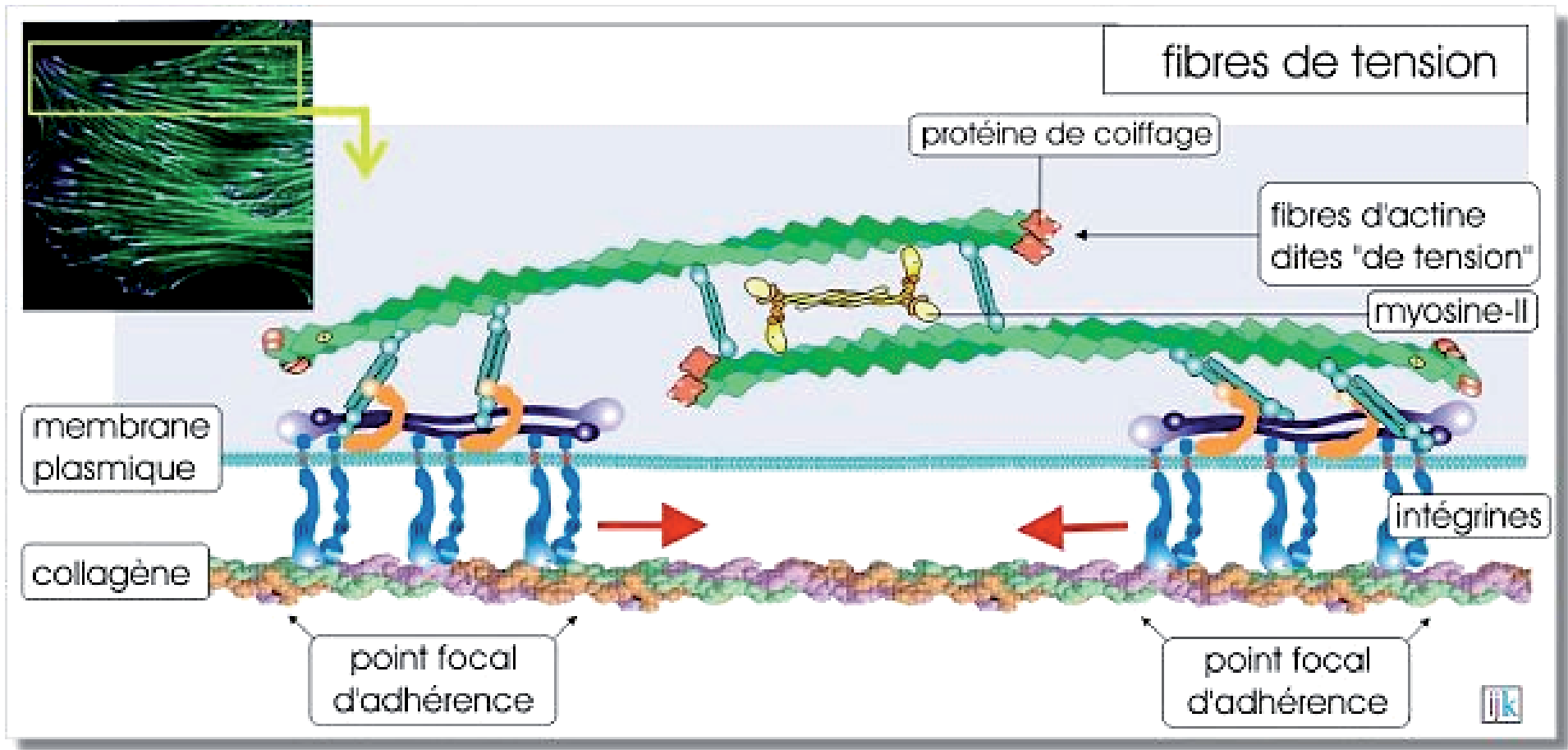
Permettre la motilité cellulaire dans les cellules affectant un mouvement amoéboïde utilisant des pseudopodes et dans les cellules douées d'une capacité de phagocytose.

Offrir dans le muscle une structure filamenteuse (échafaudage) où peuvent s'ancrer les molécules de myosine pour y générer la force assurant la contraction musculaire.

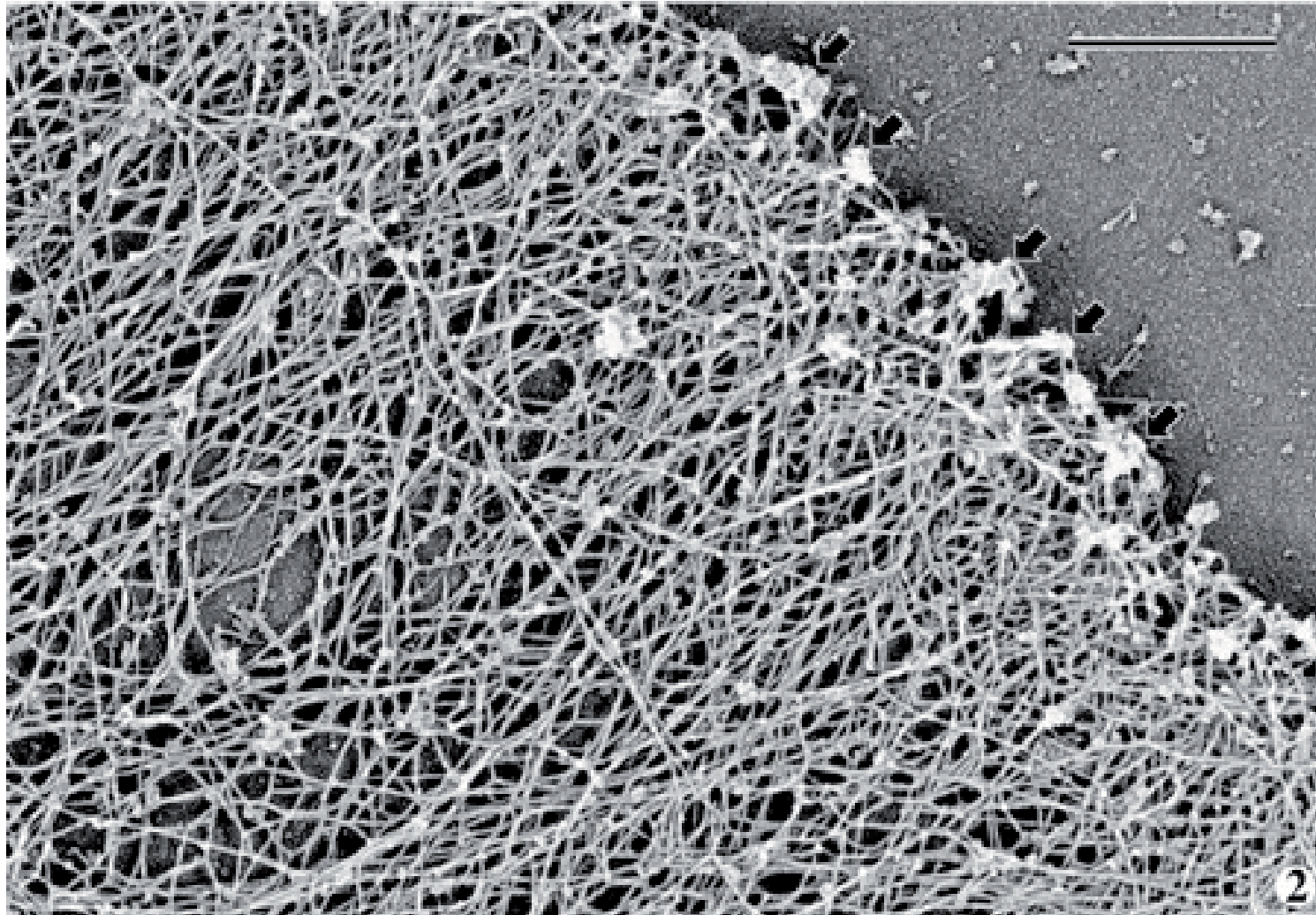
Servir de route, dans les cellules non musculaires, pour le transport de charges/vésicules (cargos) grâce aux myosines non conventionnelles.

La myosine V « marche » vers l'extrémité « barbée » des filaments d'actine (export), alors que la myosine VI « marche » vers les extrémités pointées (import).

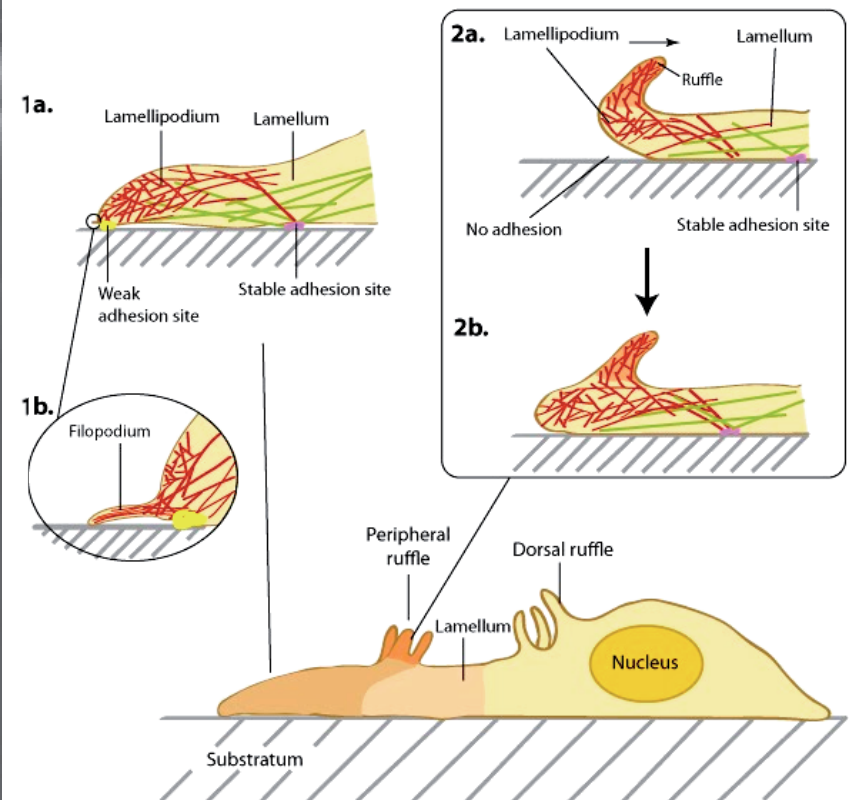
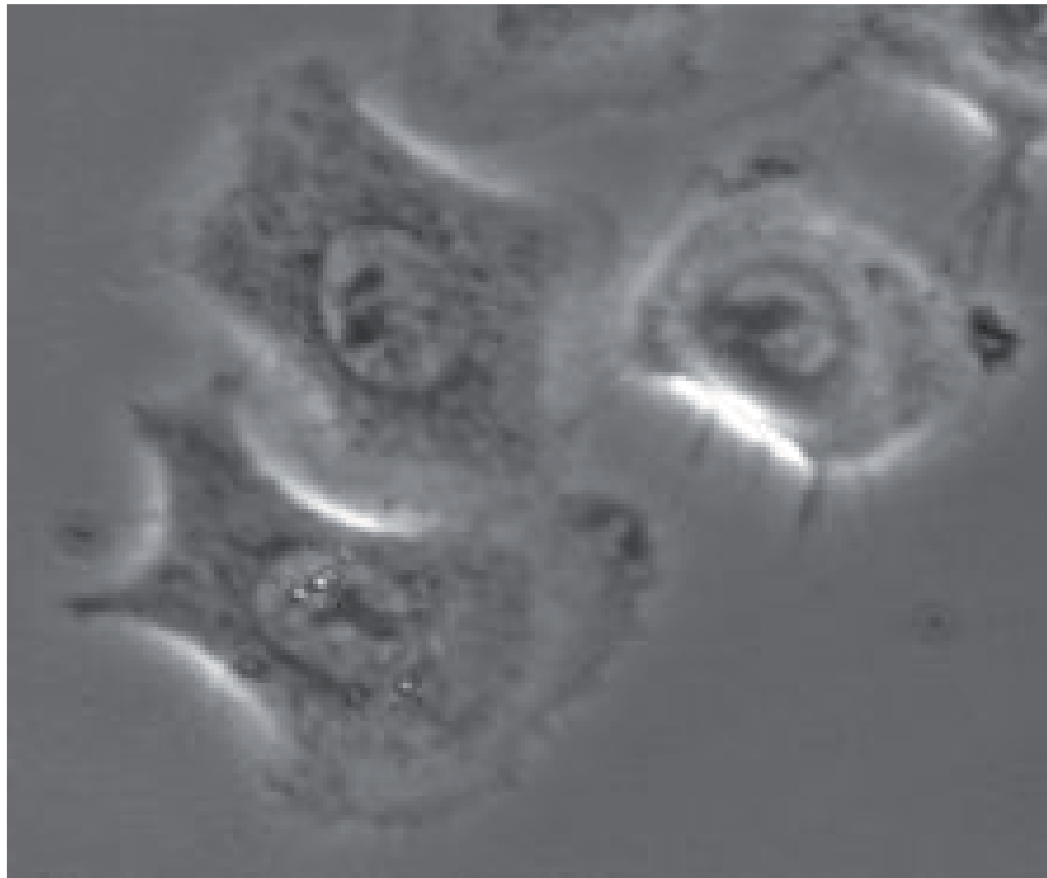
Points focaux d'adhérence



Réseau d'actine sous-cortical / « leading edge »

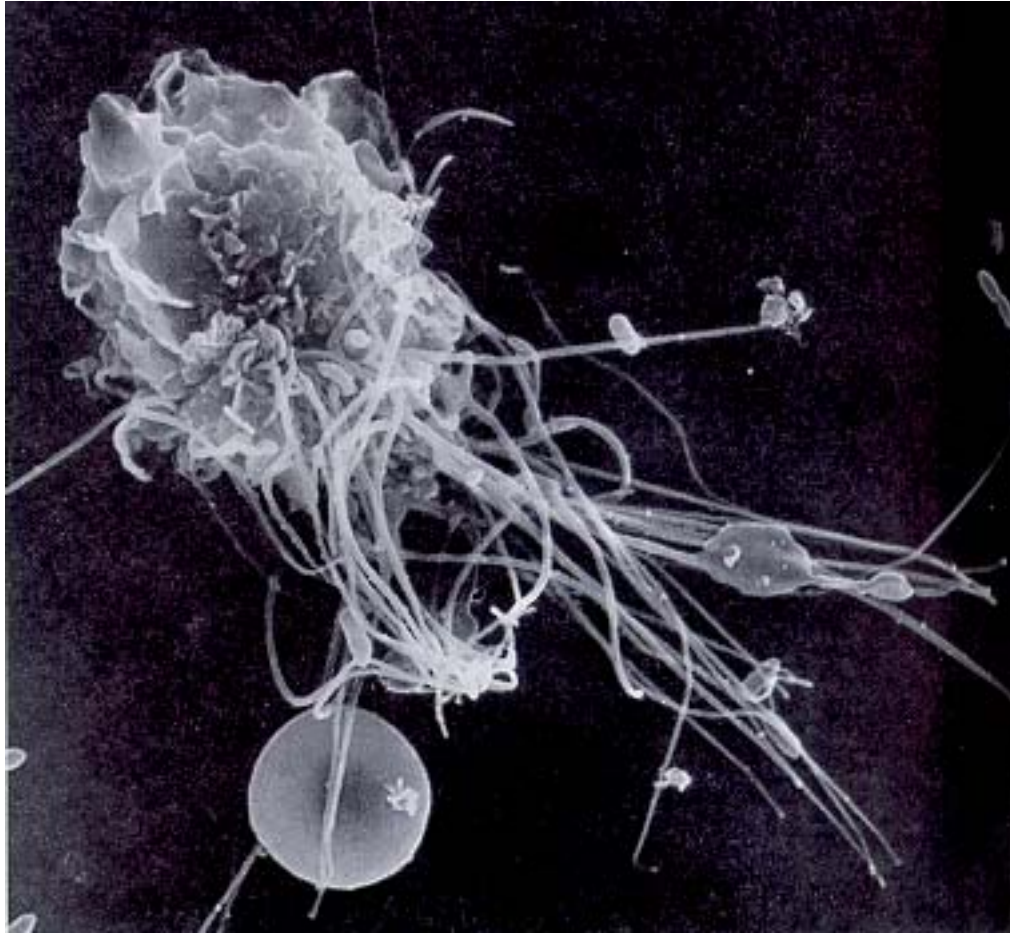


Modifications cellulaires complexes induites par CNF1 (0-120 mn)
Ces modifications dynamiques traduisent l'activation
des trois grandes catégories de GTPases: Rho, Rac et Cdc42

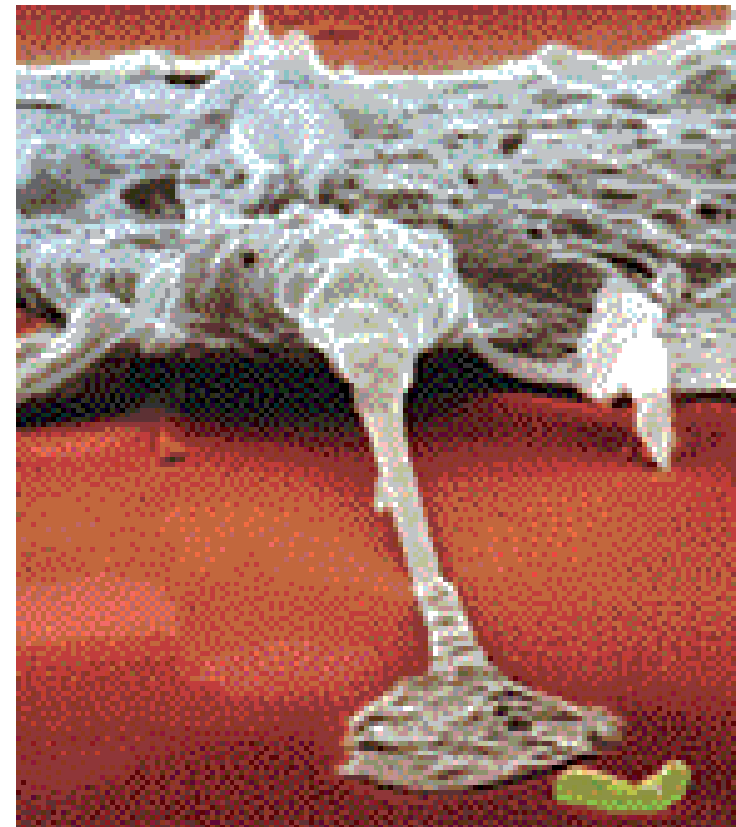


P. Boquet et coll.

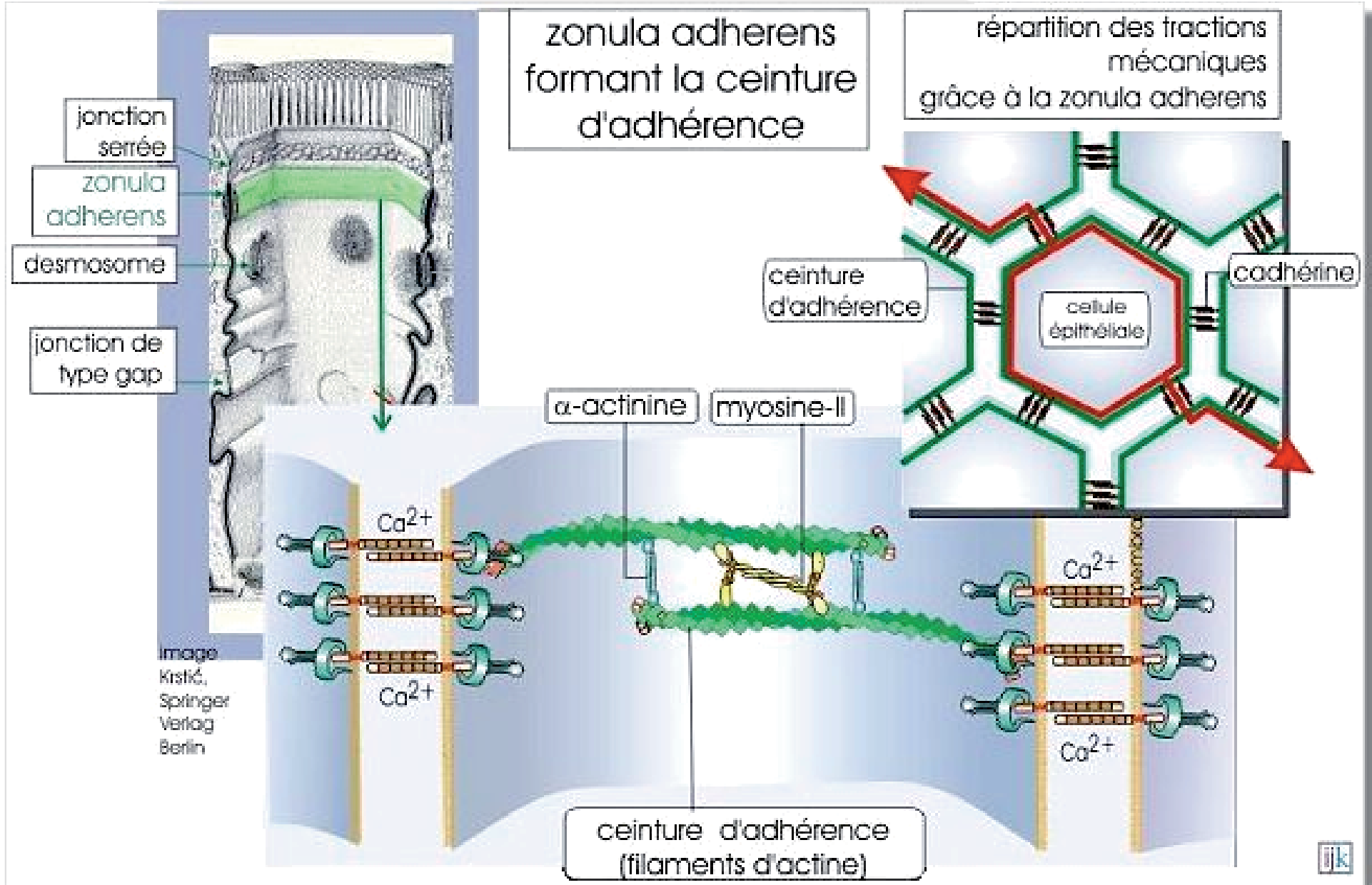
<http://manual.blueprint.org/Home/lamellipodia>



Macrophage



Cellule épithéliale polarisée



microvillosités

filaments d'actine dans les microvillosités

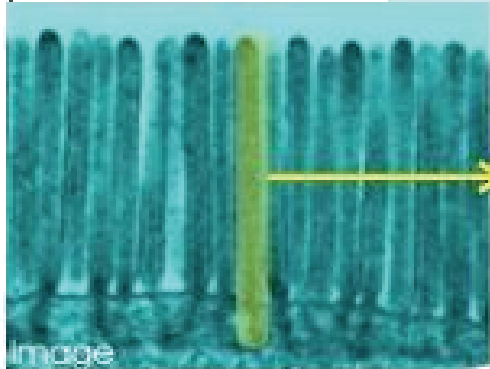
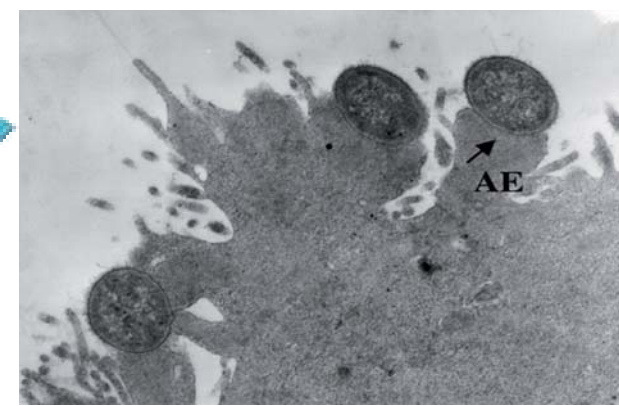
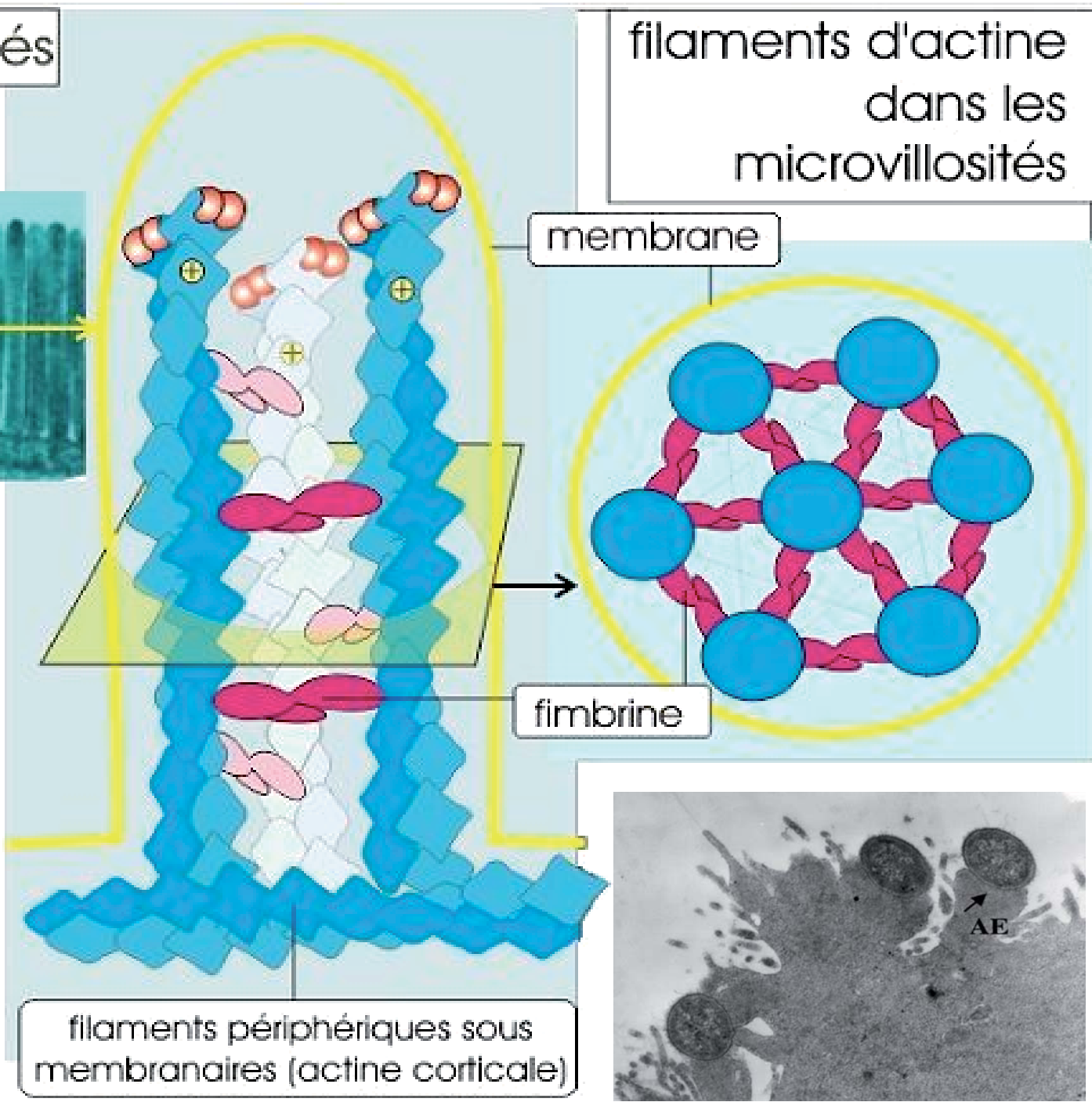
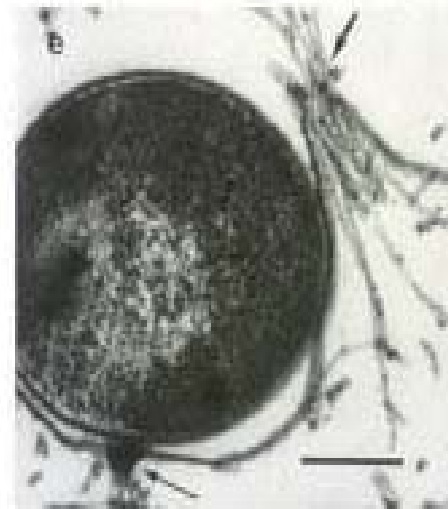
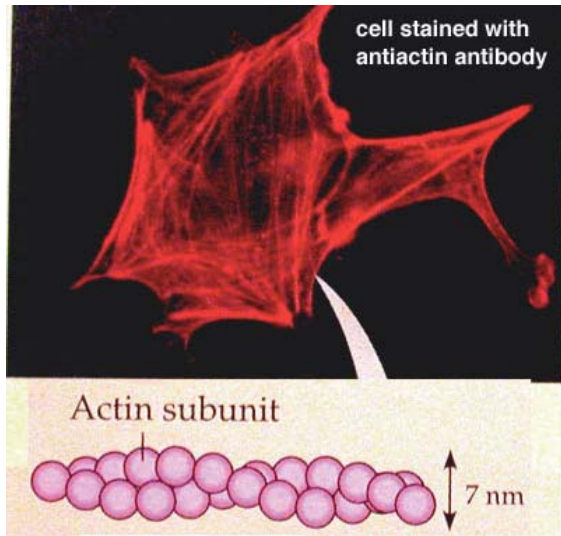


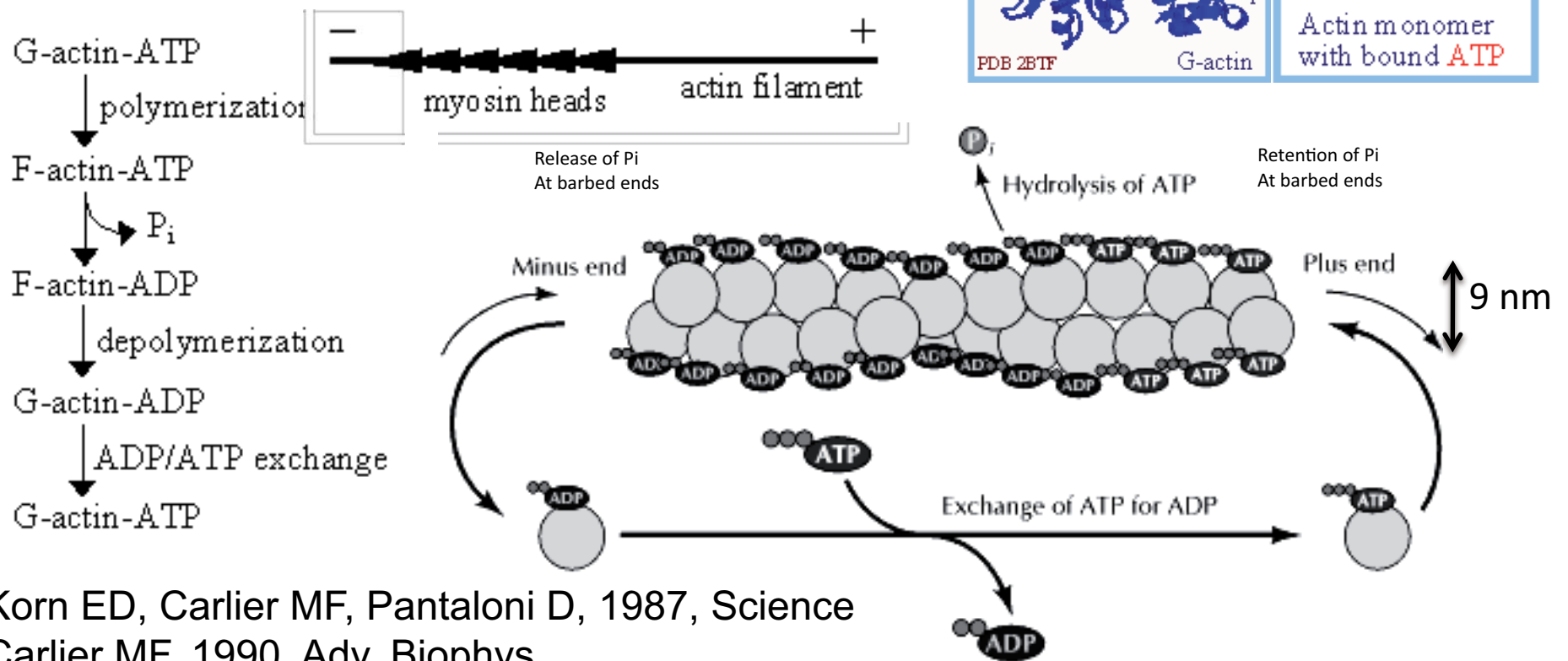
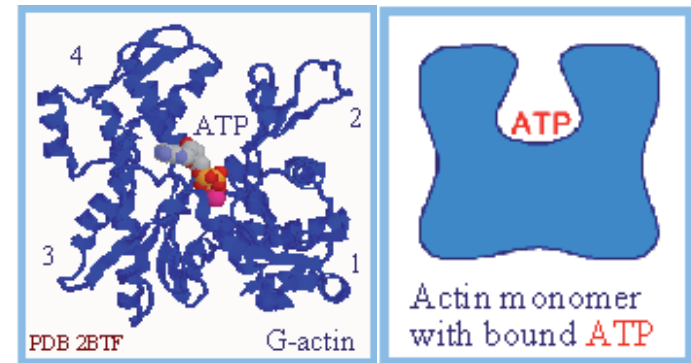
Image
Royal Holloway,
London





Actin

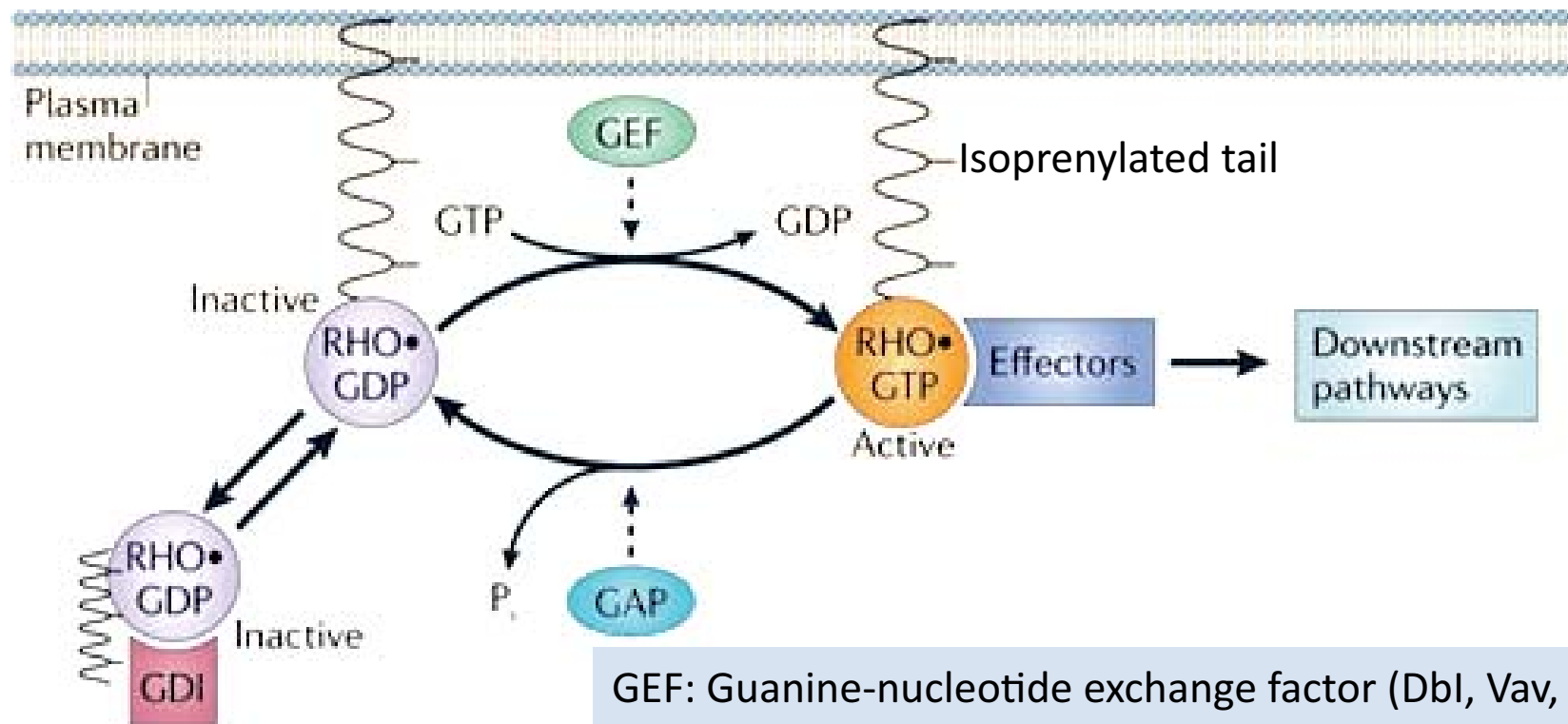
G-actin = 42 kDa



Korn ED, Carlier MF, Pantaloni D, 1987, Science
 Carlier MF. 1990. Adv. Biophys.

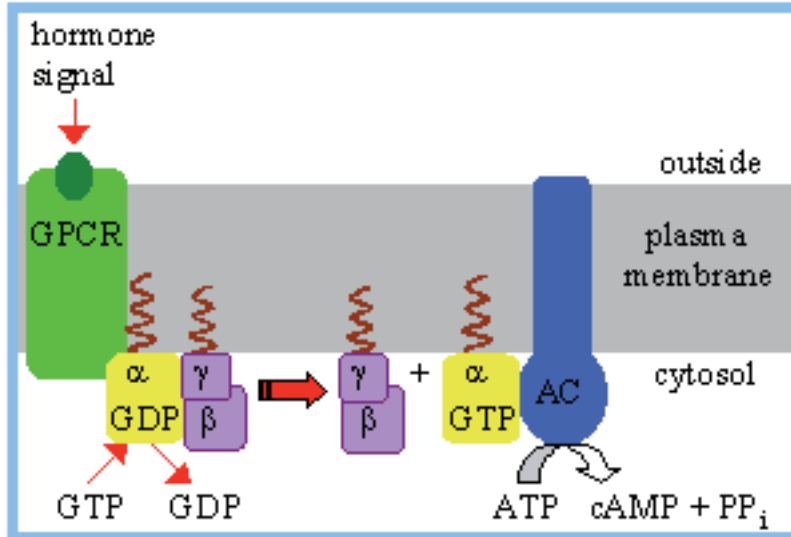
Les petites GTPases de la famille Rho comme commutateurs moléculaires (« molecular switch ») décidant/contrôlant la nucléation de la polymérisation des filaments d'actine

Les petites GTPases cdc42, Rac, Rho dans leur forme active liée au GTP régulent la polymérisation de l'actine, la dynamique du cytosquelette d'actine, l'adhérence cellulaire et l'expression génique



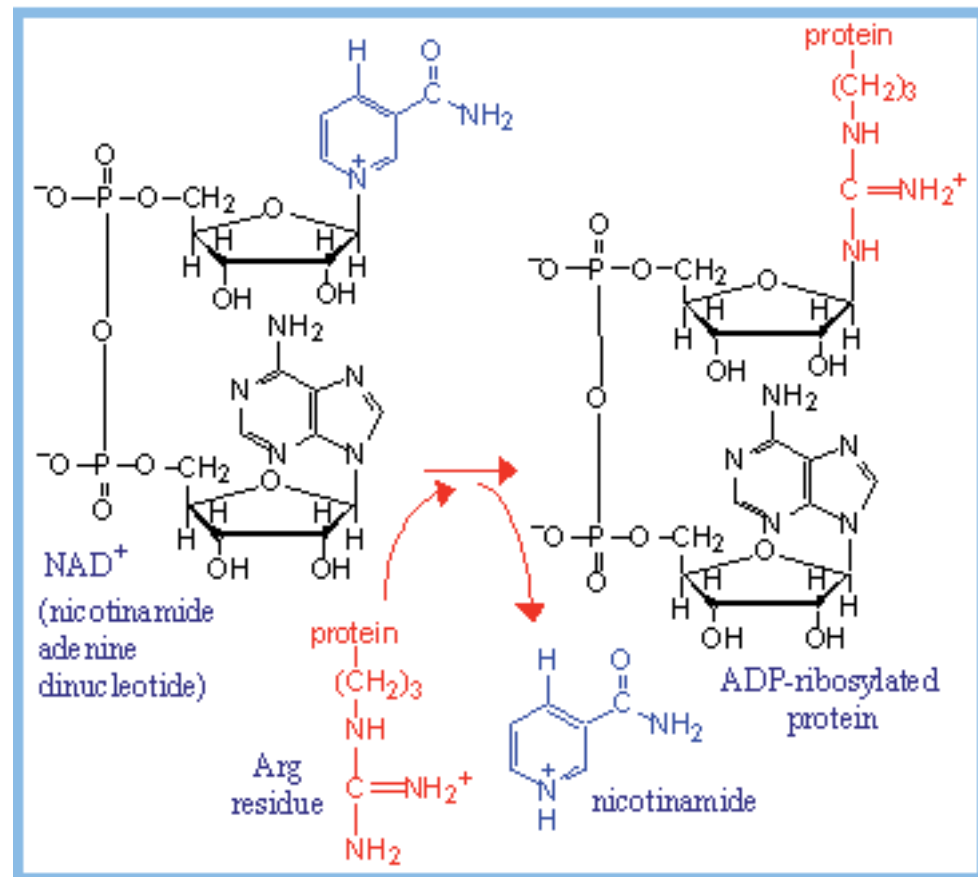
GEF: Guanine-nucleotide exchange factor (Dbl, Vav, Tiam1)
GAP: GTPase-activating protein (p190 Rho Gap)
GDI: GDP dissociation inhibitor (Rho GDI)

G-protein-coupled receptor (GPCR)

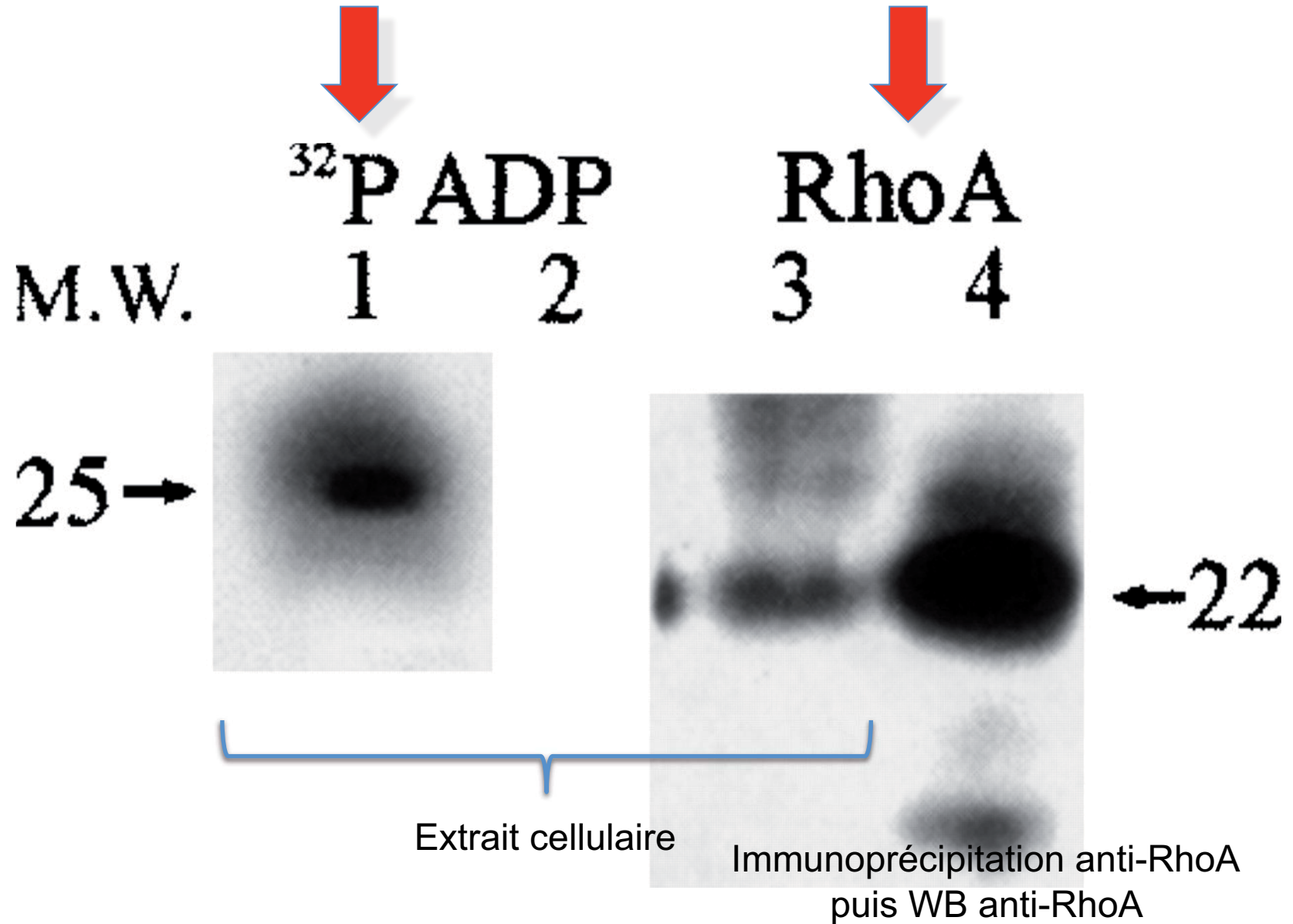


La **toxine cholérique** catalyse sur une Arg l'ADP-ribosylation de Gsa. Inhibition de l'hydrolyse du GTP. Activité adénylate-cyclase constitutivement induite.

La **toxine pertussis** catalyse sur une Cystéine l'ADP-ribosylation de Gsa. Inhibition du transfert de GTP en remplacement du GDP. Activité adénylate-cyclase bloquée



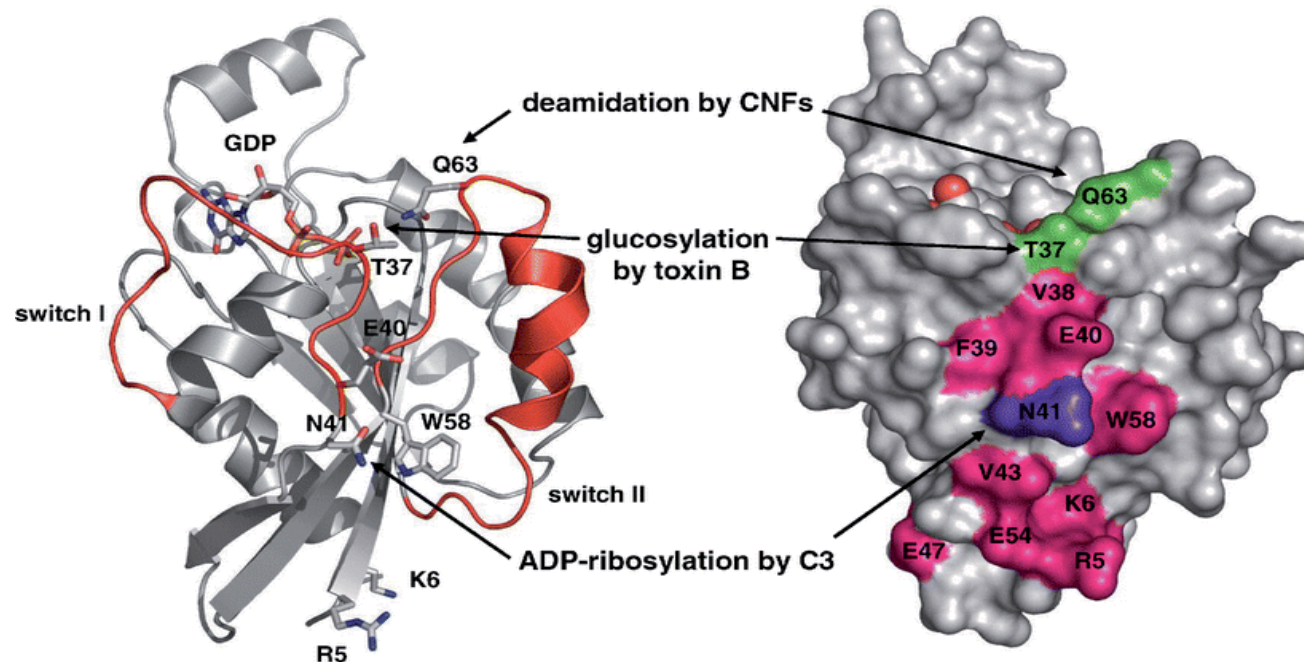
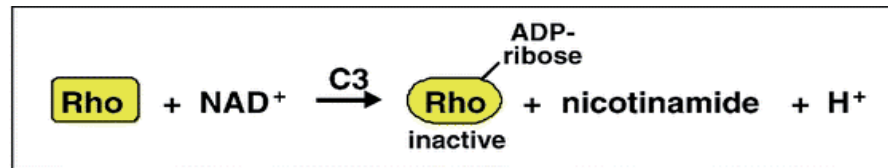
Clostridium botulinum exoenzyme C3 transferase (C3) induit [32P]ADP-ribosylation de RhoA Western blotting de RhoA



Rôle majeur des effecteurs microbiens dans la découverte des effecteurs/fonctions régulatrices du cytosquelette d'actine:

Exoenzyme C3 de *Clostridium botulinum* (ADP-ribosyl transférase)

ADP-ribosylates Rho proteins on Asn-41 (Aktories et coll., 1988, Sekine et coll. 1988)



ADP-ribosylation of RhoA by C3. C3 transferases ADP-ribosylate RhoA at RhoA^{N41} (scheme). RhoA (pdb code 1FTN) is shown as a ribbon plot (*left*) and as a surface representation (*right*) with GDP as a space-filling model. The acceptor RhoA^{N41} (*blue*) is located adjacent to the switch I region in the effector loop, a region involved in the interaction with effector proteins of RhoA. RhoA^{R5, K6, E40, E47, E54, W58}, and RhoA^{V38, F39, V43}, which are involved in substrate-toxin interaction, are shown in *pink*.

Rôle majeur des effecteurs microbiens dans la découverte des effecteurs/fonctions régulatrices du cytosquelette d'actine:

Exoenzyme C3 de *Clostridium botulinum* (ADP-ribosyl transférase)
ADP-ribosylates Rho proteins on Asn-41 (Aktories et coll., 1988, Sekine et coll. 1988)

The EMBO Journal vol.8 no.4 pp.1087 – 1092, 1989

The mammalian G protein *rhoC* is ADP-ribosylated by *Clostridium botulinum* exoenzyme C3 and affects actin microfilaments in Vero cells

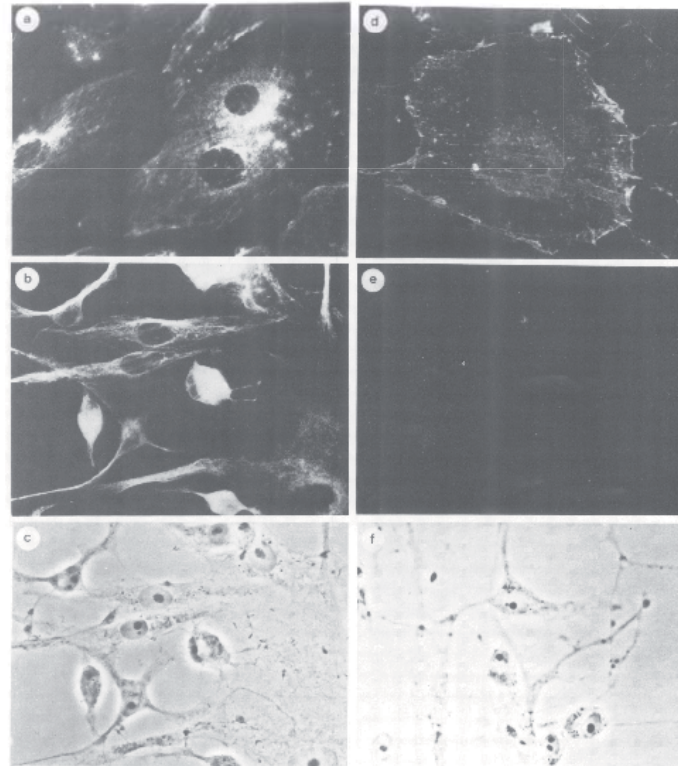
P.Chardin, P.Boquet¹, P.Madaule²,
M.R.Popoff³, E.J.Rubin⁴ and D.M.Gill⁴

Microtubules

C3

-

+



Actine

Cellules Vero traitées durant
15h par 5 microg/ml de C3
purifié.

The Small GTP-Binding Protein rho Regulates the Assembly of Focal Adhesions and Actin Stress Fibers in Response to Growth Factors

Anne J. Ridley and Alan Hall
Institute for Cancer Research
Chester Beatty Laboratories
Fulham Road
London SW3 6JB
England

GTPase-activating protein, rhoGAP, found in many cell types (Garrett et al., 1989, 1991). Mutation of amino acid 14 from Gly to Val, equivalent to the Val-12 oncogenic mutation in ras, decreases the intrinsic GTPase activity of rho proteins and makes them unresponsive to rhoGAP (Garrett et al., 1989). rhoGAP is also active on rac, whereas two proteins with sequence homology to rhoGAP,

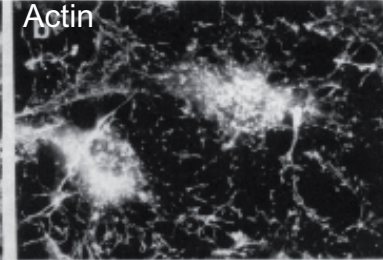
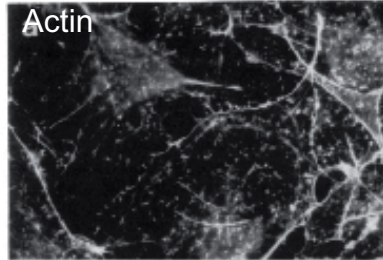
The Small GTP-Binding Protein rac Regulates Growth Factor-Induced Membrane Ruffling

**Anne J. Ridley, Hugh F. Paterson,
Caroline L. Johnston, Dagmar Diekmann,
and Alan Hall**
Institute for Cancer Research
Chester Beatty Laboratories
Fulham Road
London SW3 6JB
England

nant rac1 bound to the nonhydrolyzable GTP analog GTP- γ S, but not to GDP, stimulates the production of superoxide in this assay (Abo et al., 1991). Two cytoplasmic proteins, p47 and p67, are also required to activate the membrane-bound NADPH oxidase, and their expression is restricted to myeloid cells (Morel et al., 1991). rac1, however, is expressed in other cell types and is therefore likely to have another function distinct from its role in phagocyte-specific superoxide generation. Other mem-

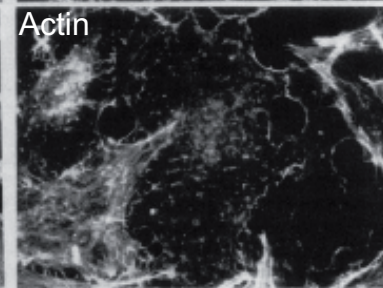
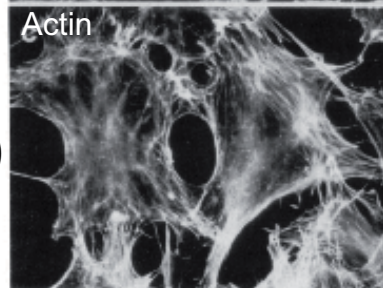
Inhibition de formation des cables de stress et des plaques d'adhésion par injection de C3 ou de RhoAADP-ribosylé

Swiss 3T3
Sevrées de serum



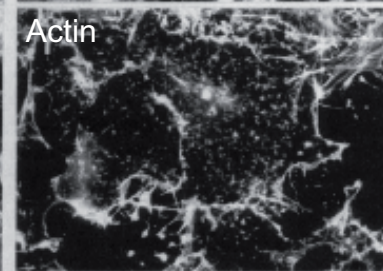
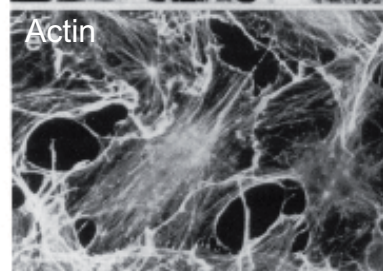
Swiss 3T3
Sevrées de serum
+ C3 (160 microg/ml), 20 mn

Swiss 3T3
Sevrées de serum
+ C3 (80 microg/ml)
+ LPA, 10 mn



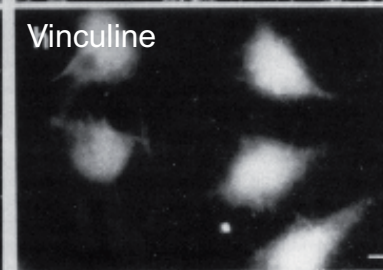
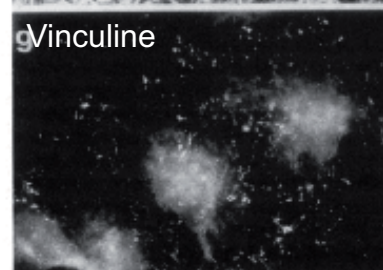
Swiss 3T3
Sevrées de serum
+ C3 (160 microg/ml)
+ LPA, 10 mn

Swiss 3T3
Sevrées de serum
+ Buffer
+ LPA, 10 mn



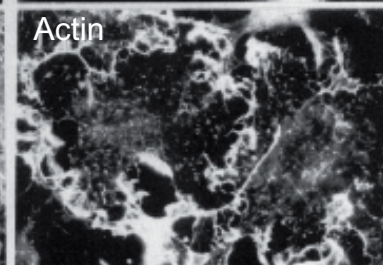
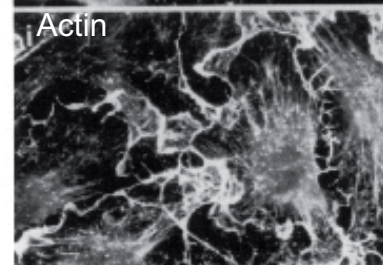
Swiss 3T3
Sevrées de serum
+ Ribosylated RhoA
+ LPA, 10 mn

Swiss 3T3
Sevrées de serum
+ LPA 10 mn

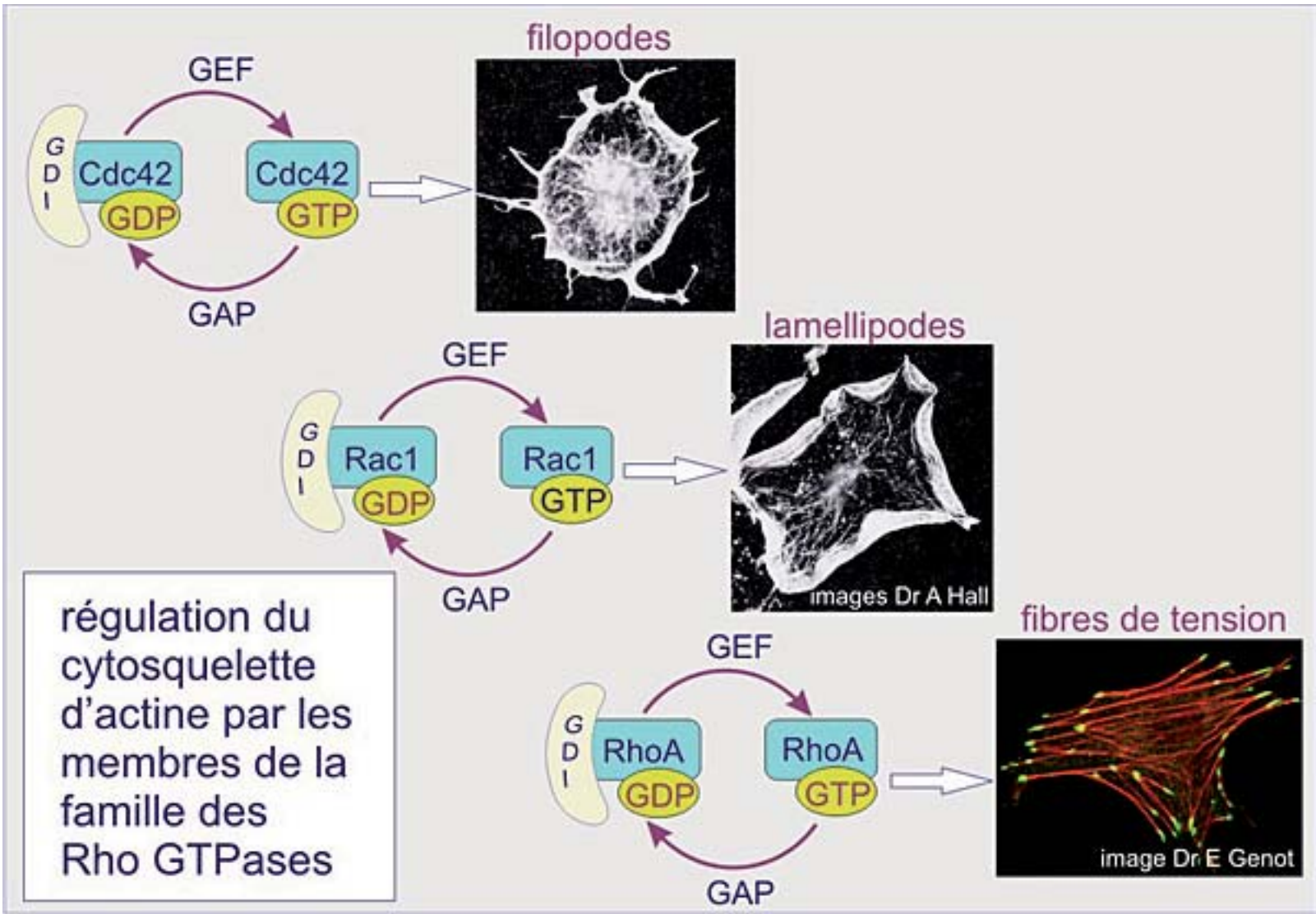


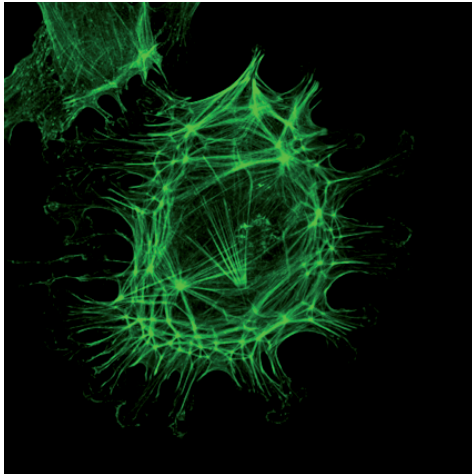
Swiss 3T3
Sevrées de serum
+ C3 (160 microg/ml)
+ LPA 10 mn

Swiss 3T3
Sevrées de serum
+ PDGF

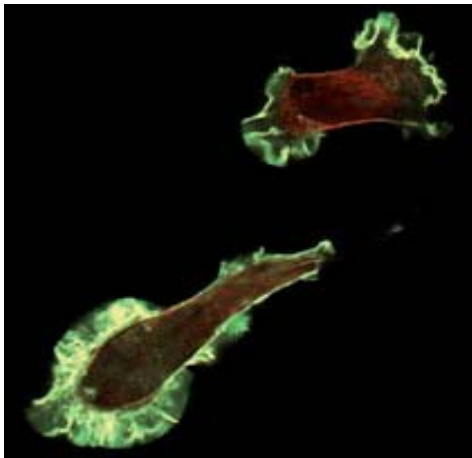


Marquage vinculine
Swiss 3T3
Sevrées de serum
+ C3 (160 microg/ml)
+ PDGF, 10 mn

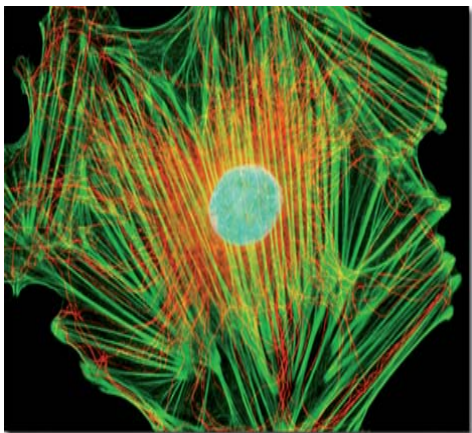




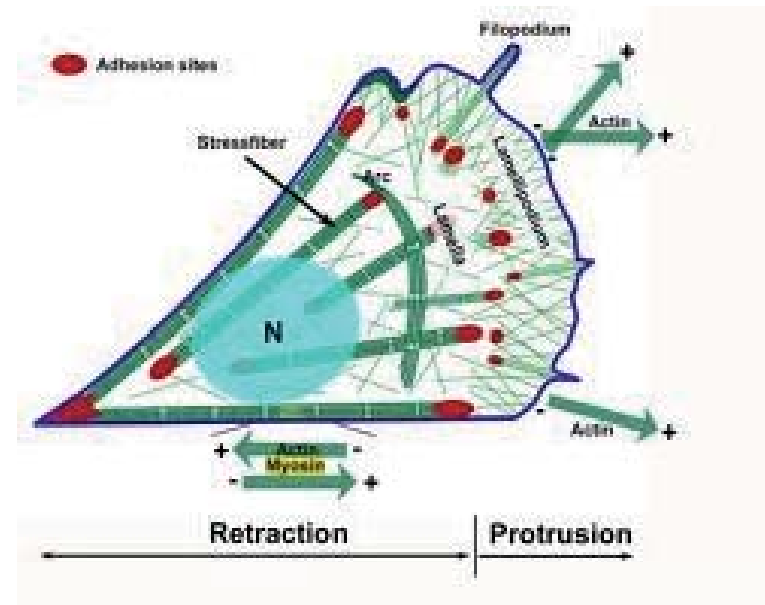
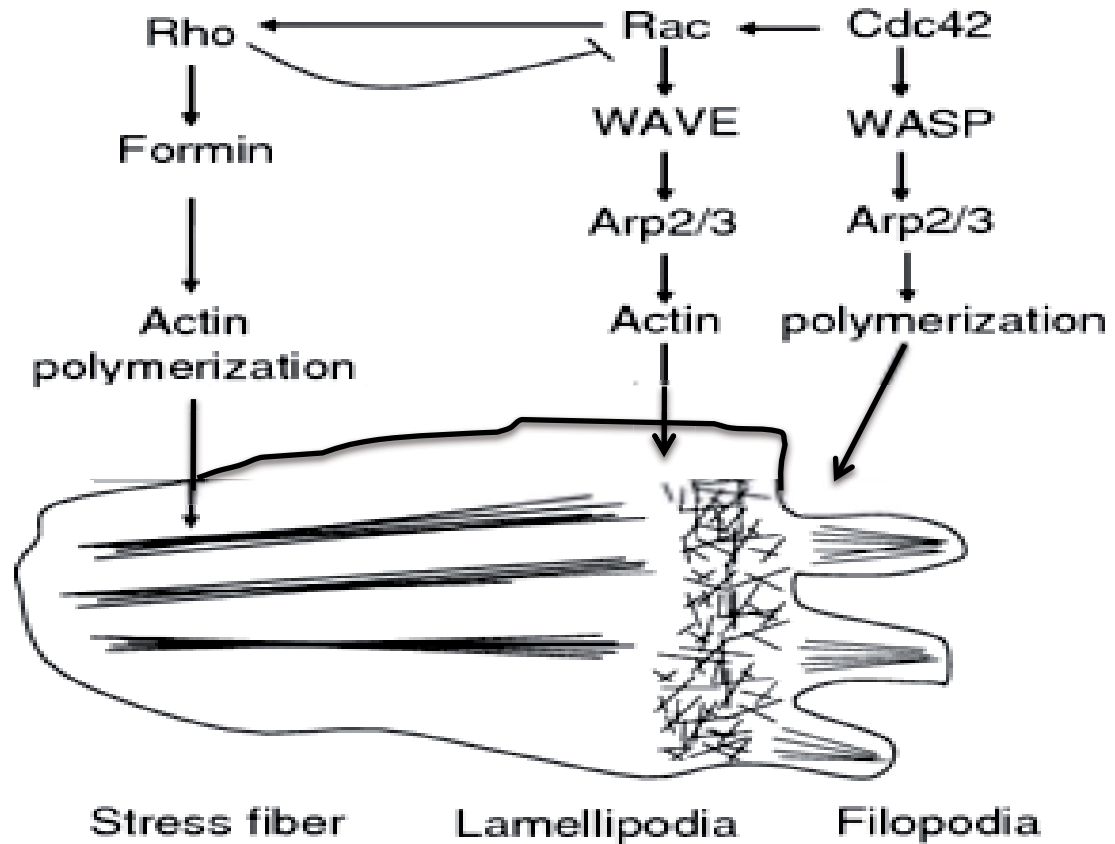
cdc42

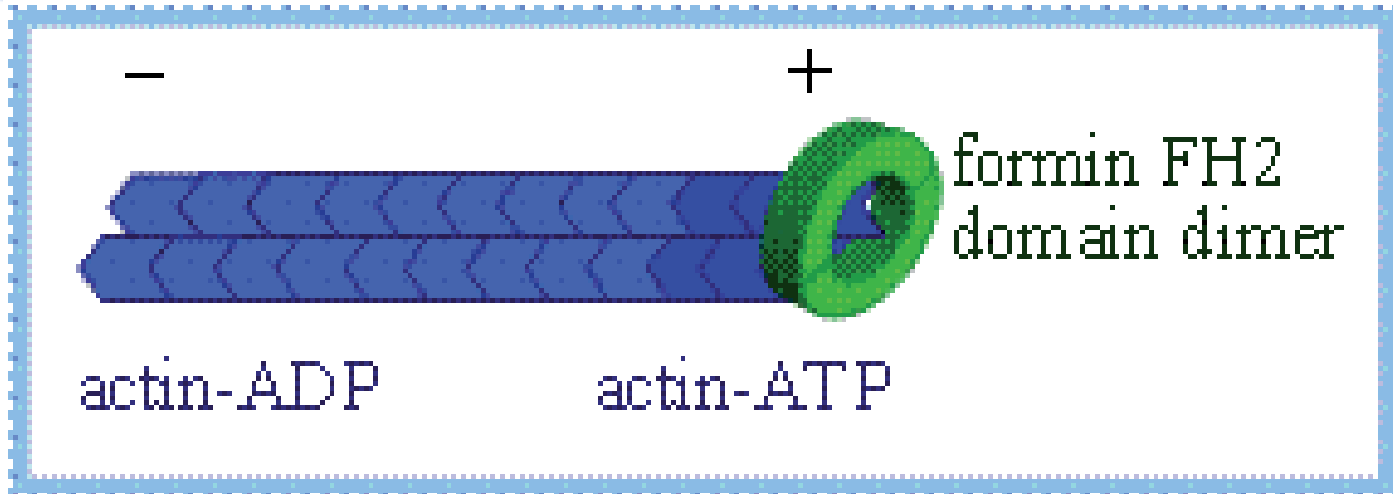
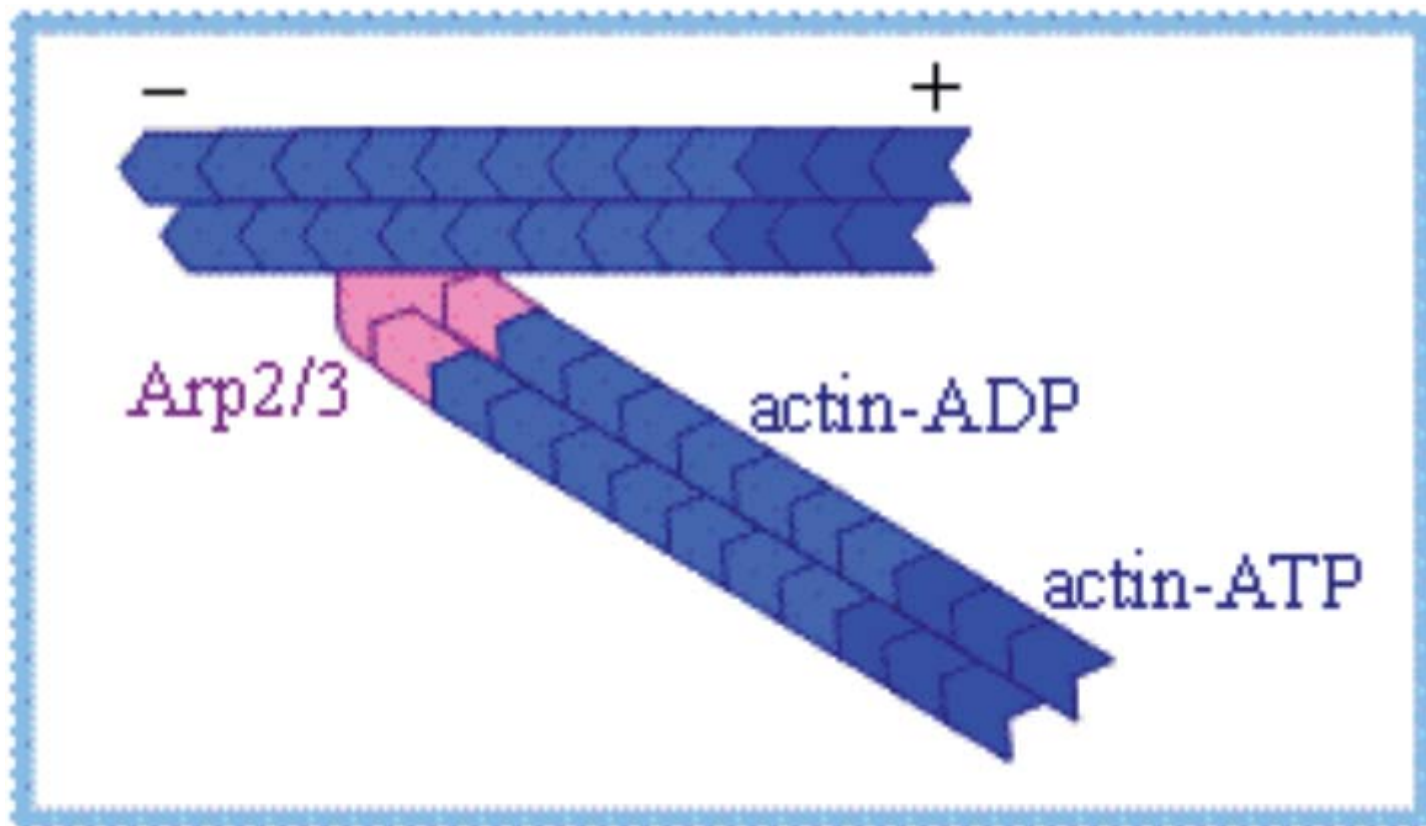


Rac1



RhoA



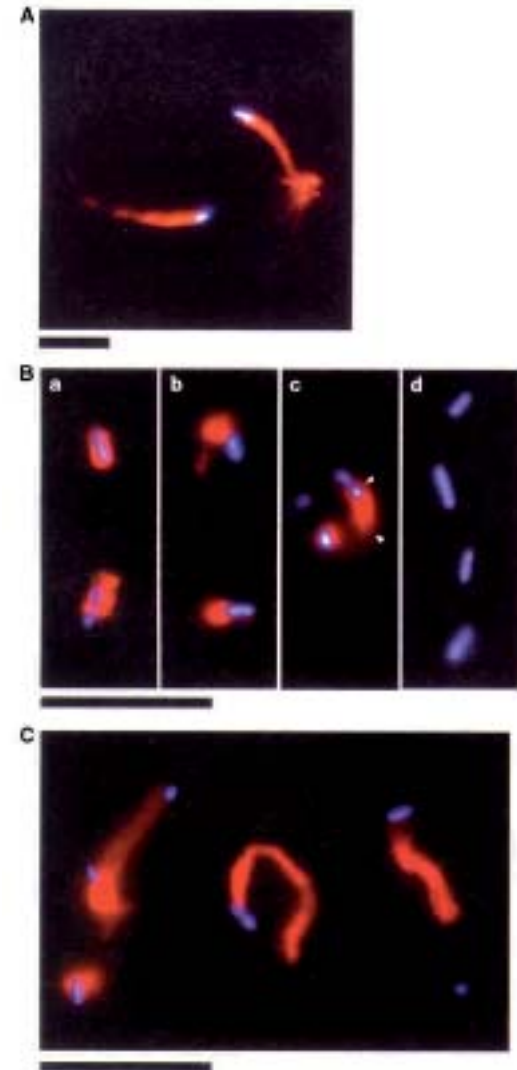
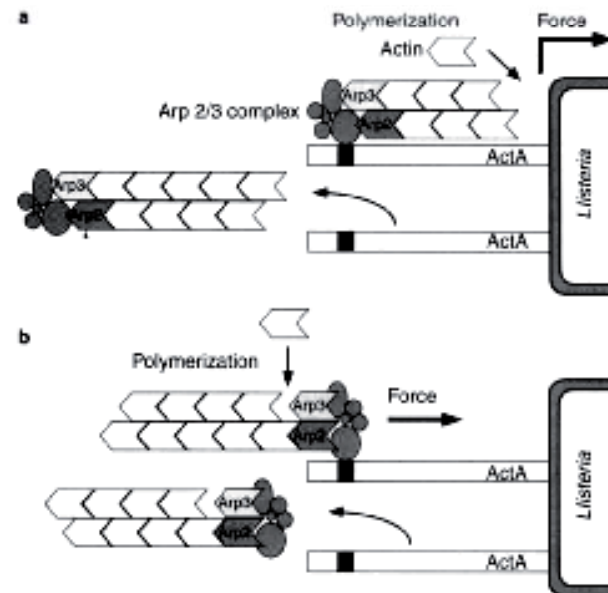


Actin polymerization is induced by Arp2/3 protein complex at the surface of *Listeria monocytogenes*

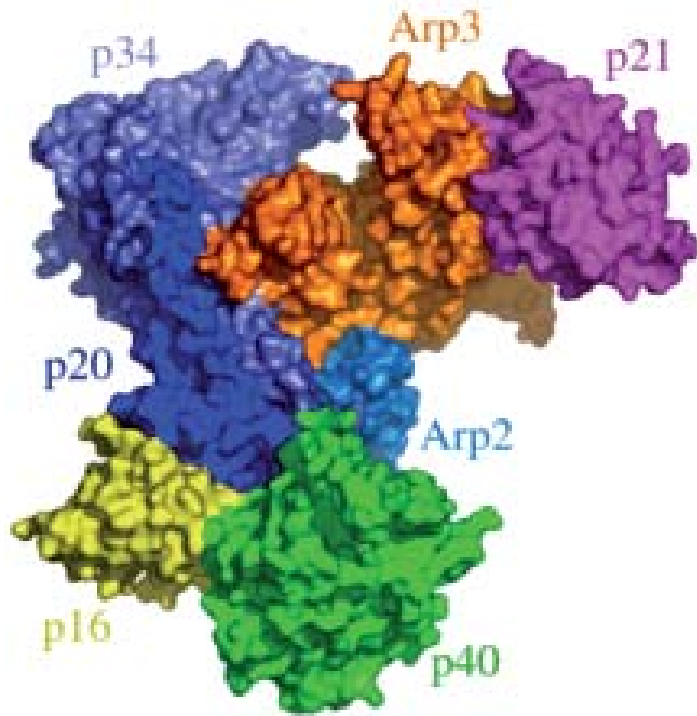
Matthew D. Welch^{*}, Akihiro Iwamatsu[†]
& Timothy J. Mitchison^{*}

^{*} Department of Cellular and Molecular Pharmacology, University of California at San Francisco, San Francisco, California 94143, USA

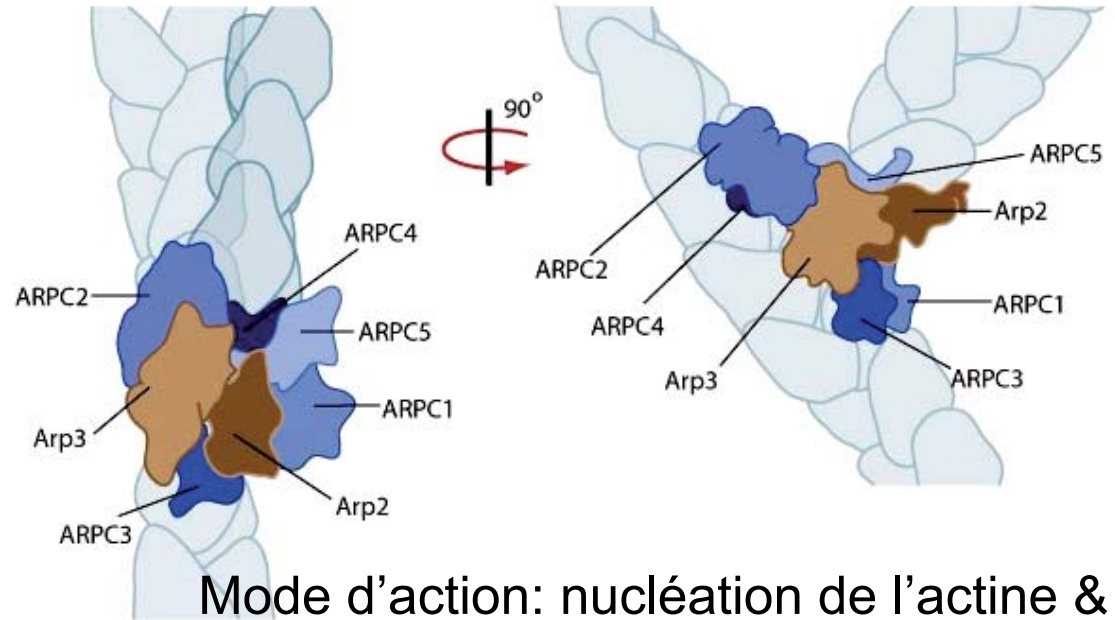
[†] Central Laboratories for Ivo Technology, Kirin Brewery Co., Yokohama, Japan



Le complexe Arp 2/3



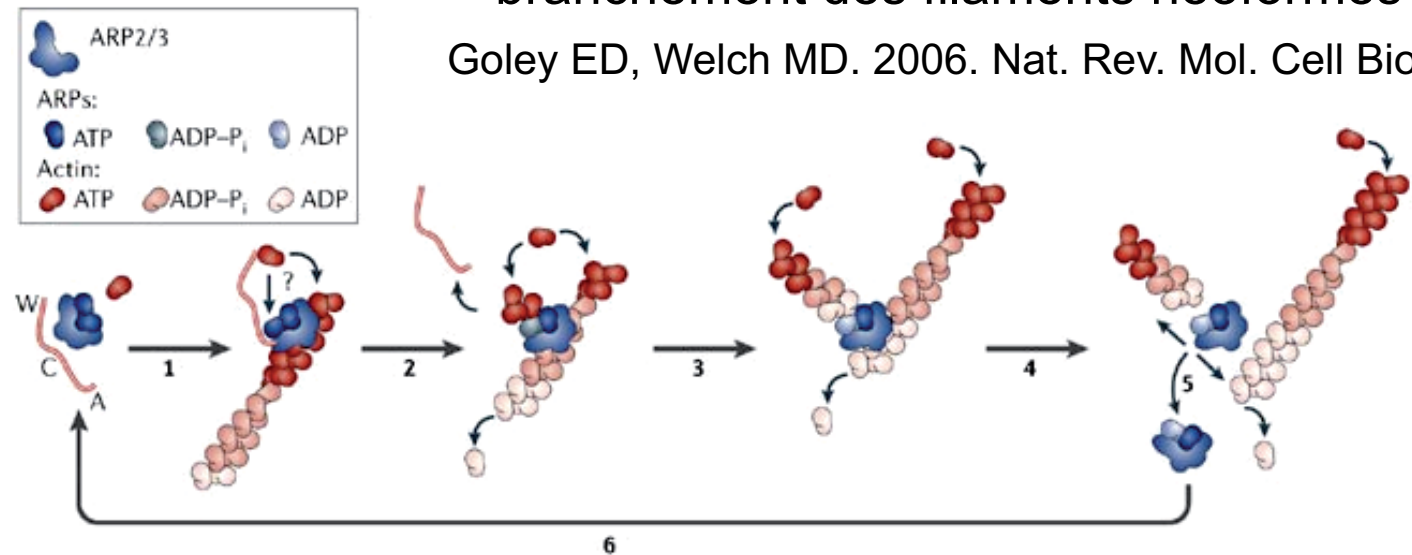
Structure

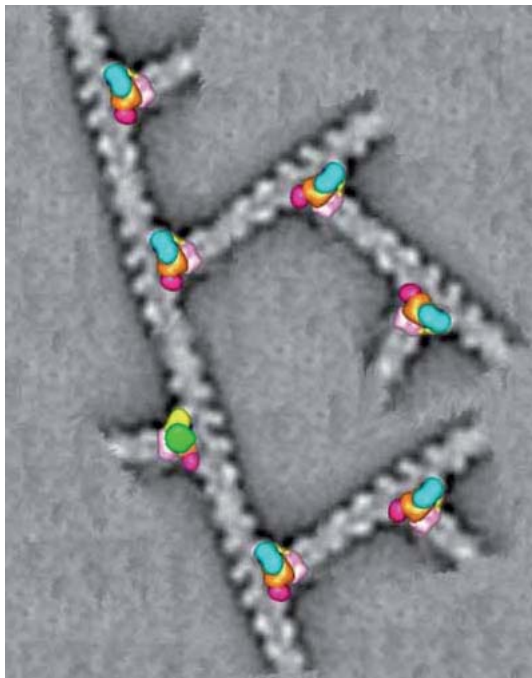
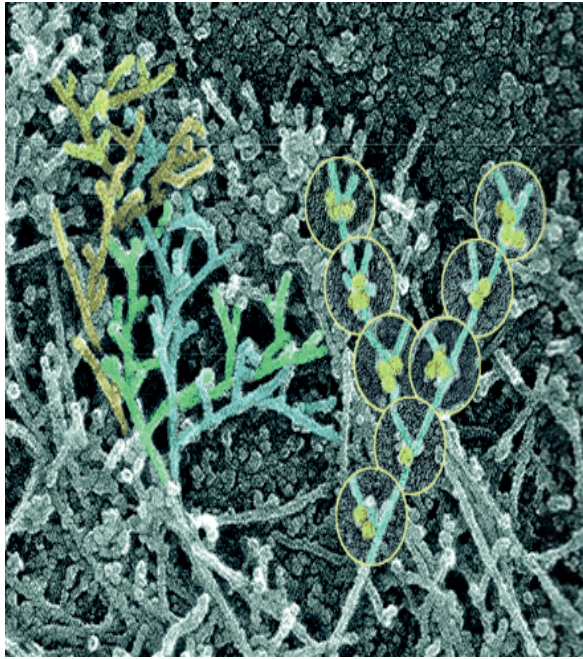


Mode d'action: nucléation de l'actine & branchement des filaments néoformés

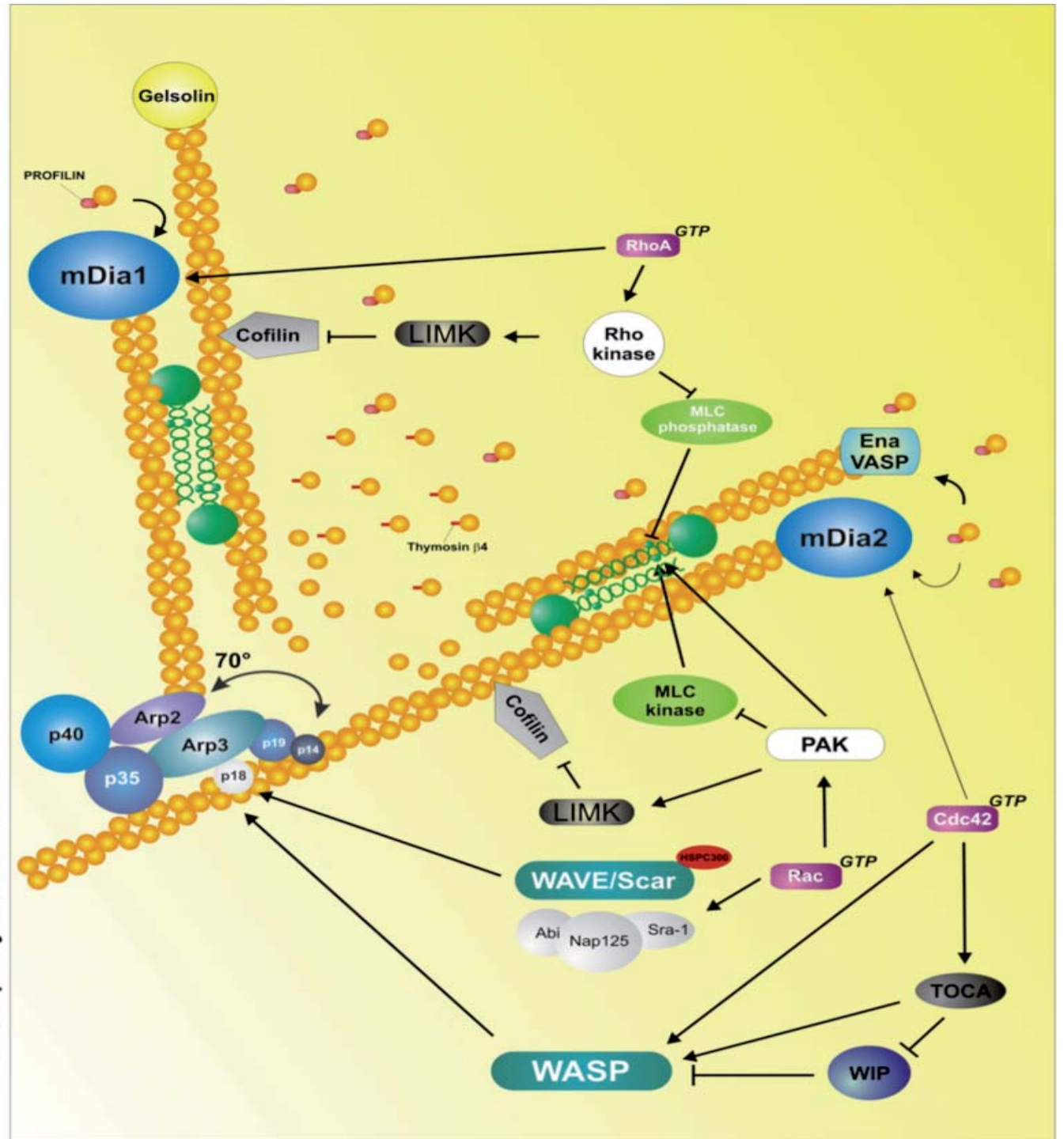
Goley ED, Welch MD. 2006. Nat. Rev. Mol. Cell Biol.

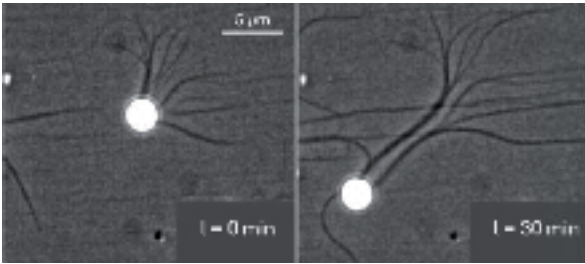
Recyclage



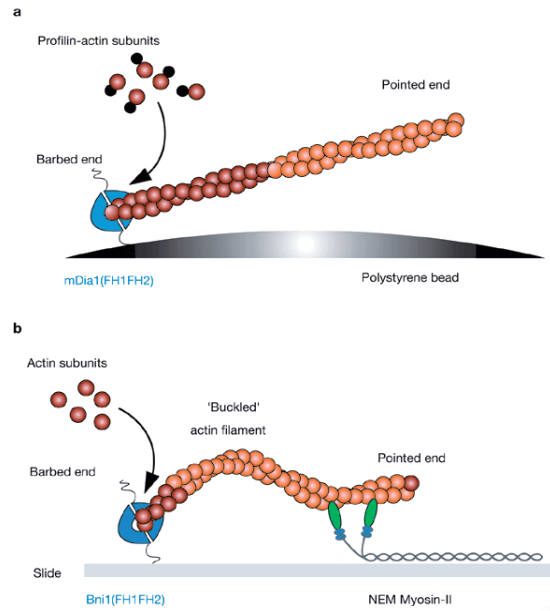


Actin polymerization

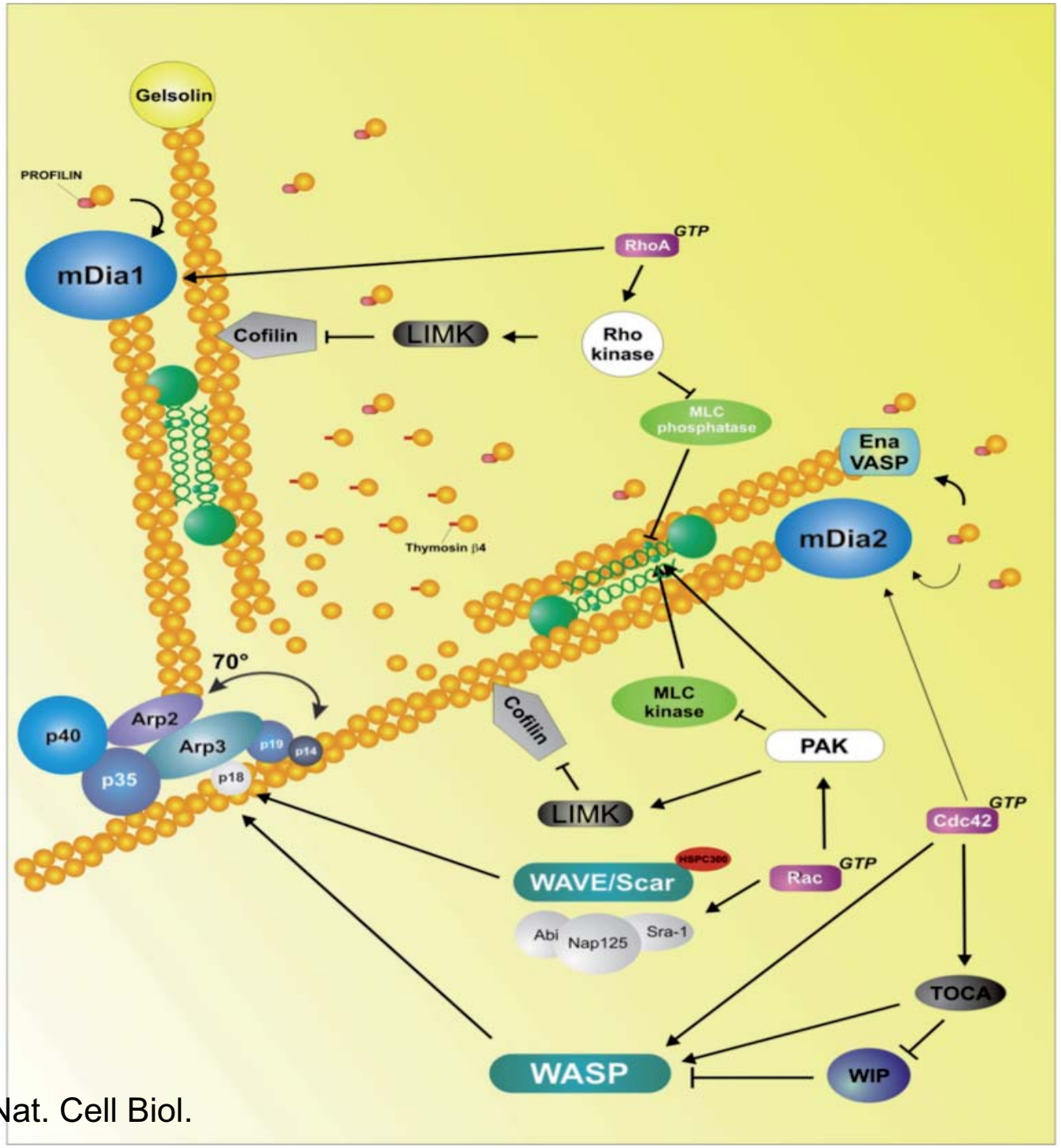




Michelot et coll.



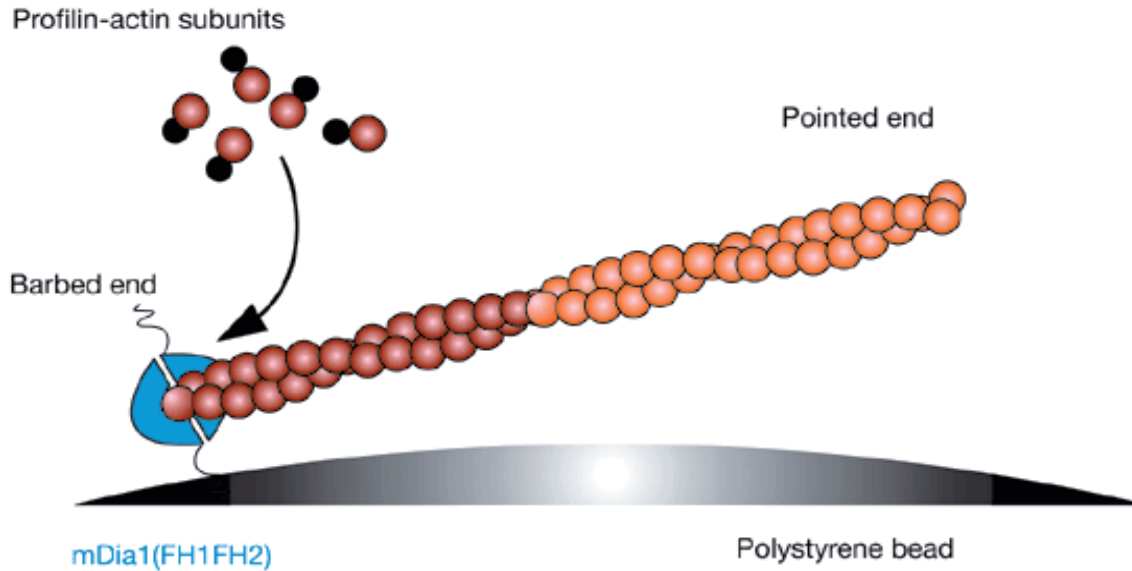
Actin polymerization



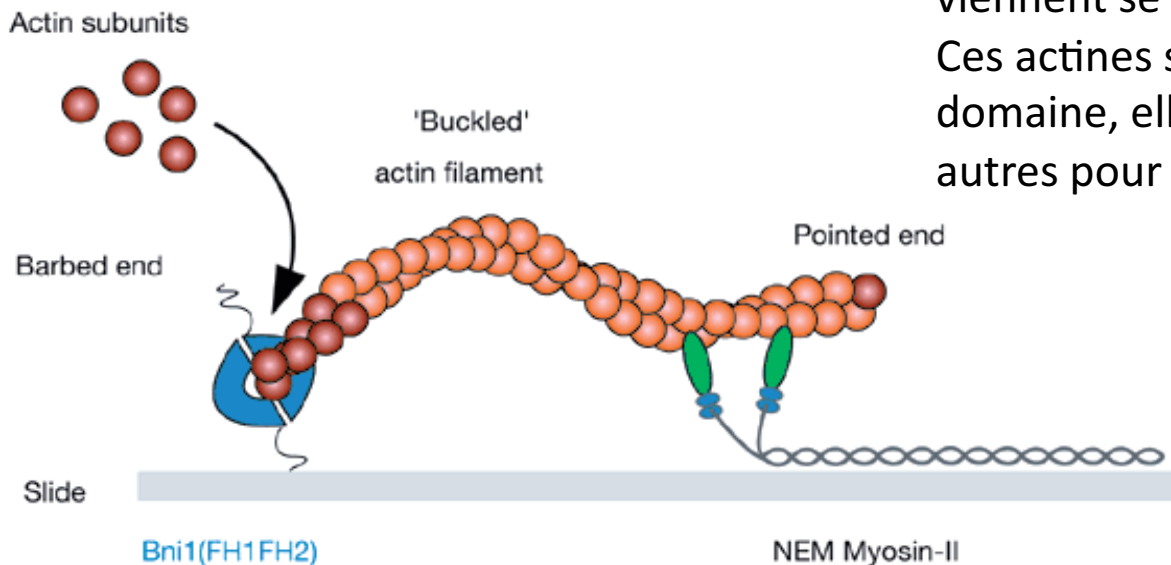
Kovar DR & Polard TD. 2004. Nat. Cell Biol.

Mécanisme de nucléation de l'actine par les formines

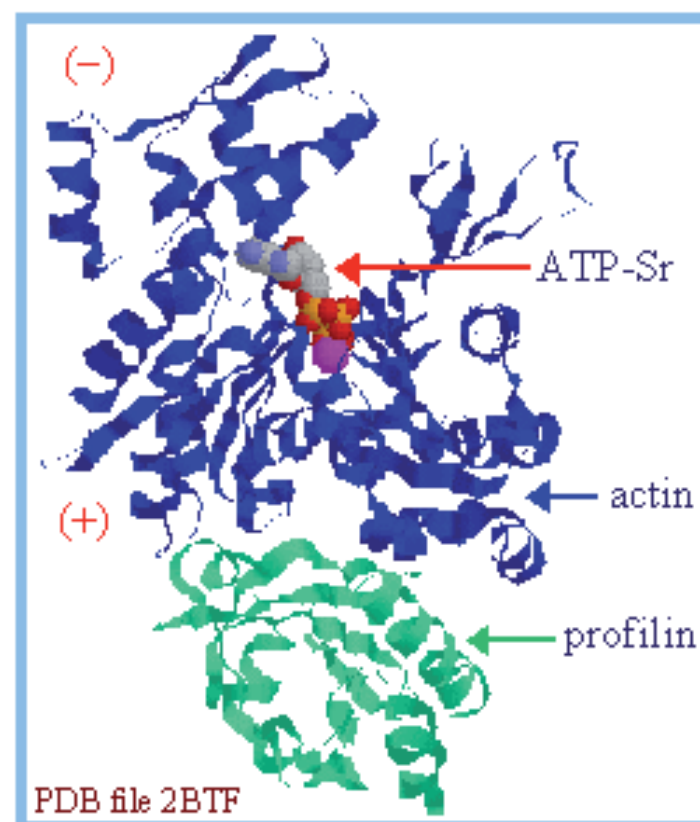
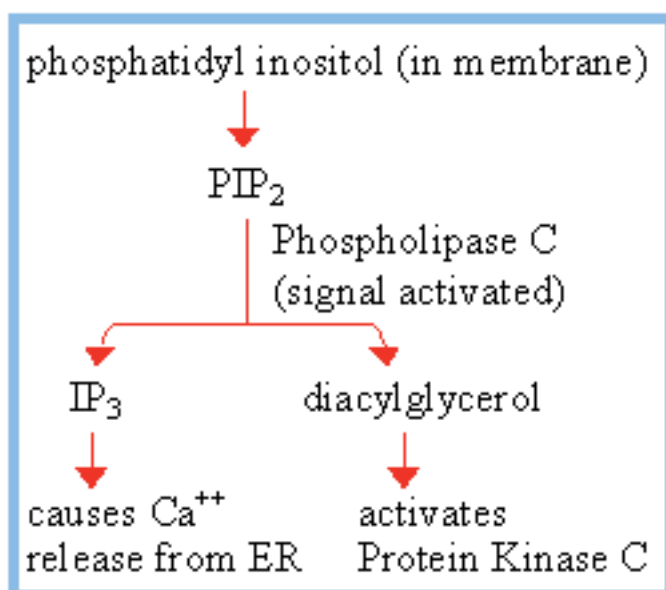
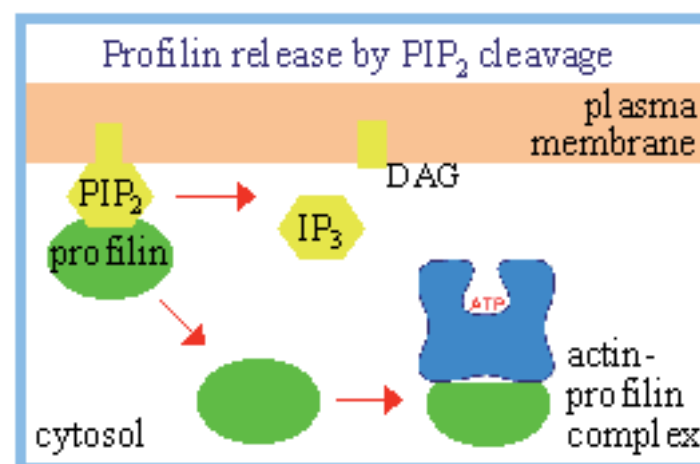
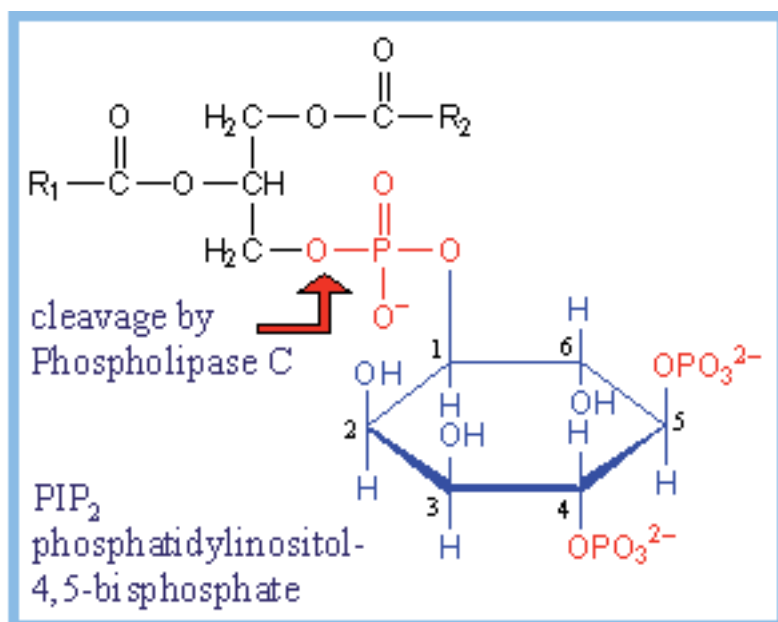
a



b



La formine a deux domaines riches en proline. Des profilines liées chacune à une actine G viennent se lier sur le premier domaine. Ces actines sont transférées sur l'autre domaine, elle s'associent les unes à la suite des autres pour former le filament.

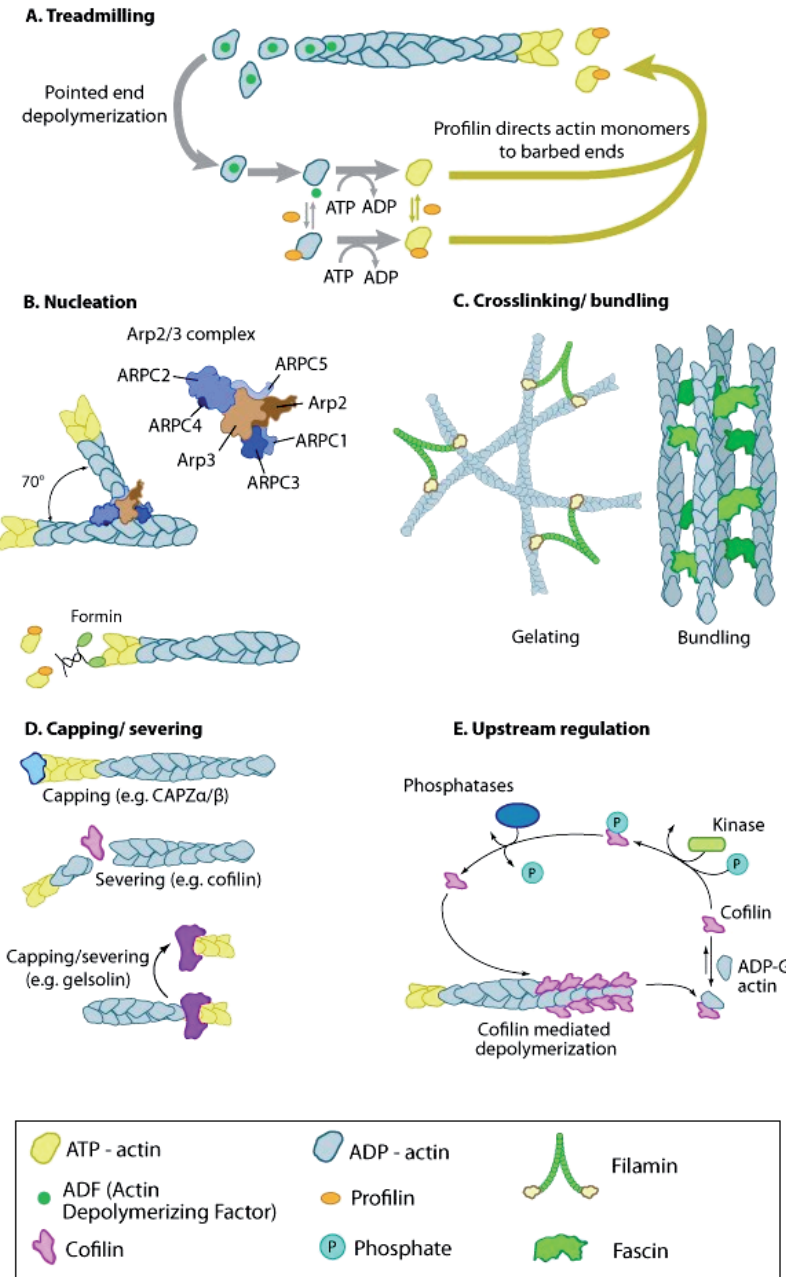


Protéines associées à l'actine (actin binding proteins = ABP)

Plusieurs catégories d'ABP:

- 1 – Processivité = treadmilling (Profiline)
- 2 – Nucléation (Arp2/3, Formines)
- 3 – Liaison, formation de faisceaux = crosslinking, bundling (Filamin, α -Actinine, Fimbrine, Villine)
- 4 – Coiffage, coupure (CapZ, gelsoline, profiline)
- 5 – Régulations d'amont (Cofiline)
- 6 – et bien d'autres...

Contrôle de l'organisation et de la dynamique des filaments d'actine par les ABP



Toxines bactériennes affectant le cytosquelette d'actine de la cellule

Deux types de toxines bactériennes affectant le cytosquelette:

Toxines (enzymes) entraînant une modification covalente irréversible de composants essentiels de la dynamique du cytosquelette, en particulier les petites GTPases de la famille Rho.

- Fonctions inhibitrices (C3, ToxA&B, Lethal toxin, YopT)
- Fonctions activatrices (CNFs)

Toxines modifiant/régulant/mimant les fonctions de régulateurs clés de la dynamique du cytosquelette « GEF-like », « GAP-like ». Effecteurs sécrétés par TTSS & TFSS.

Toxine	Espèce	Activité enzymatique	Molécule cible	aa cible	Ref
CNF123	<i>E. coli</i>	Déamidase	Rho (CNF3), Rac, Cdc42	Gln61/63	1,2,3
C3	<i>C. botulinum</i>	ADP-ribosylation	RhoA,B,C	Asn41	4,5
TcdAB	<i>C. difficile</i>	Glucosyl-transférase	Rho GTPases	Thr35,37	6
Lethal toxin	<i>C. sordellii</i>	Glucosyl-transferase	Rac & Ras	Thr35,37	7,8
YopT	<i>Yersinia spp</i>	Protéase	Rho GTPases	Cys200 / RhoA	9

1 - Schmidt et al., 1997, Nature

2 – Hoffmann C et al., 2004, J.Biol.Chem.

3 - Flatau G et al., 2000, BBRC

4 – Aktories K et al., 1987, FEBS Lett.

5 – Rubin EJ et al., 1988, Mol.Cell Biol.

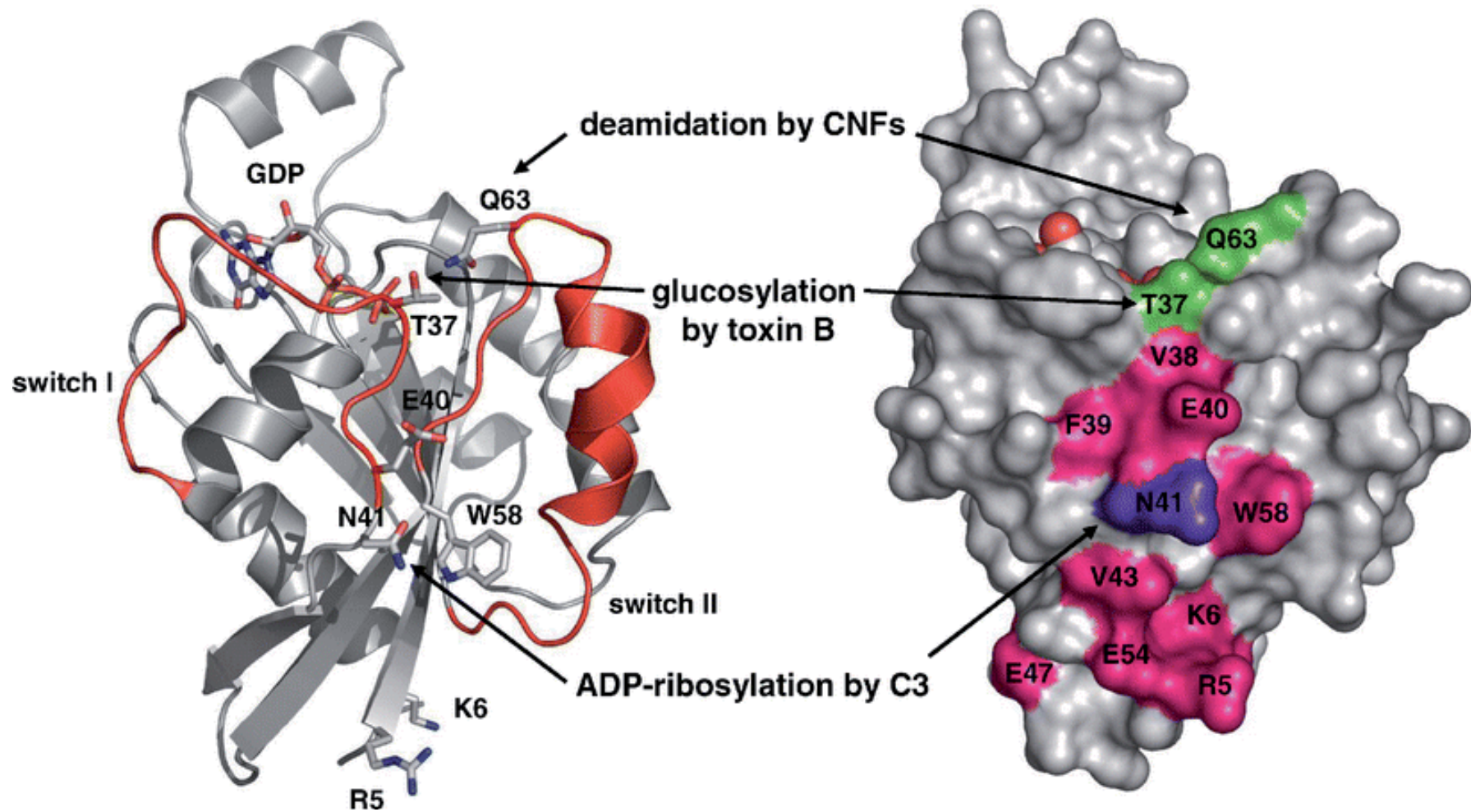
6 – Just I et al., 1995, Nature

7 – Popoff MR, 1996, J.Biol.Chem.

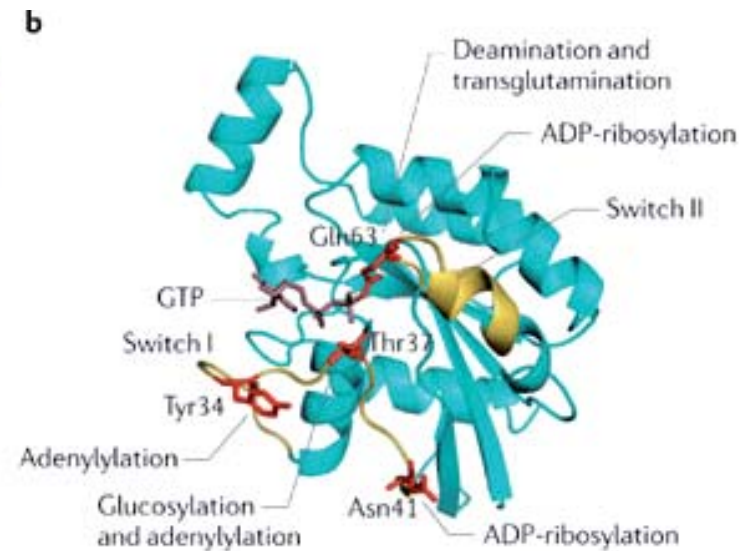
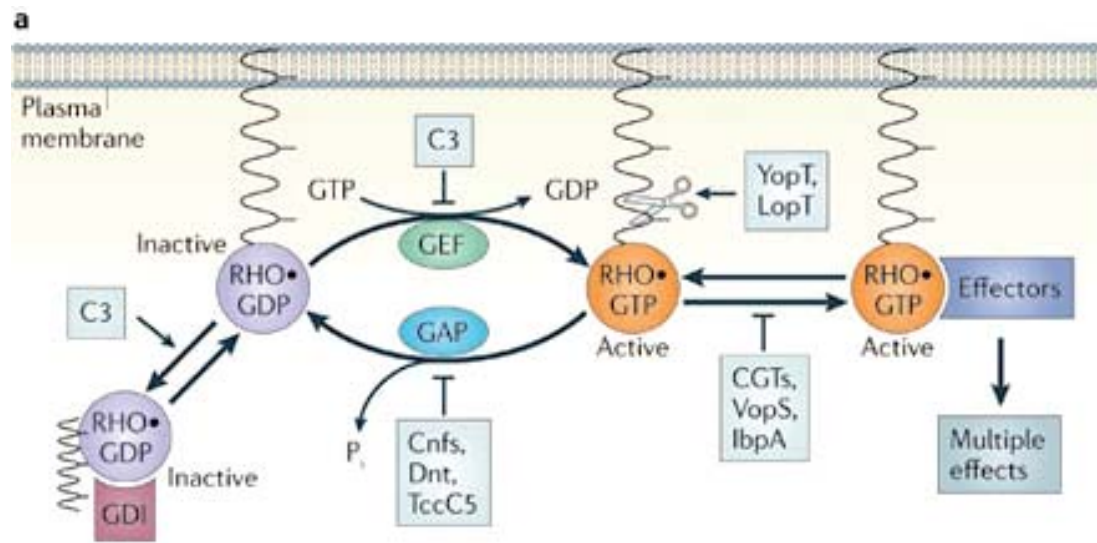
8 – Just I et al., 1996, J.Biol.Chem.

9 - Shao F et al., 2002, Cell

Modifications covalentes de Rho



Toxines bactériennes entraînant des modifications covalentes des petites GTPases de la famille Rho



C3: mécanismes d'action et fonctions

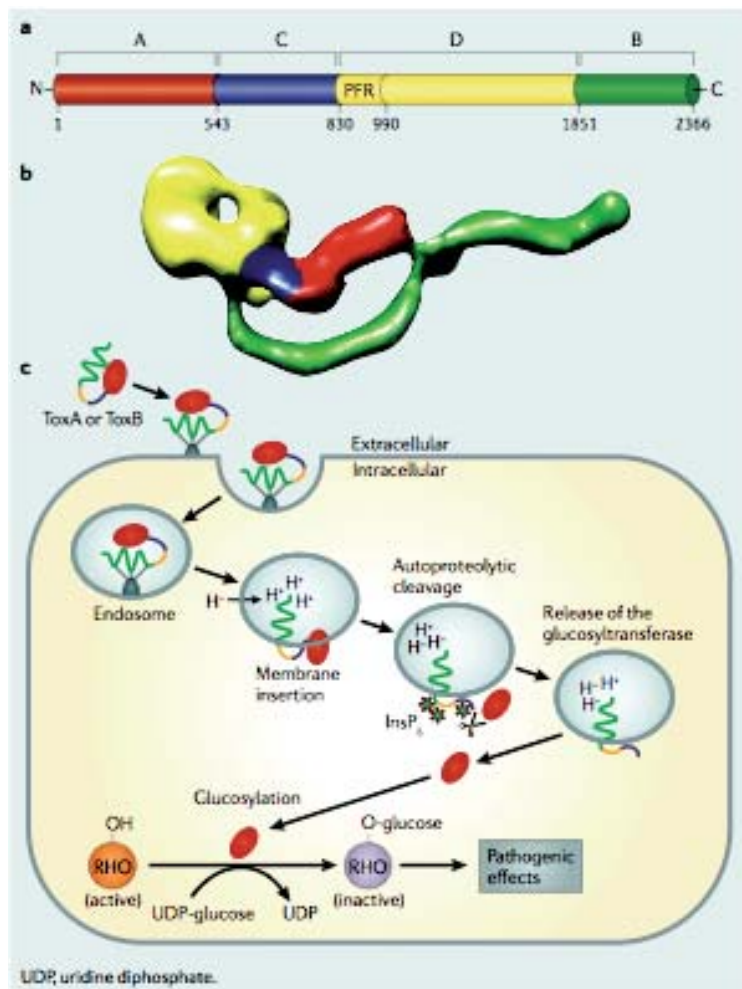
- L'exoenzyme C3 de *Clostridium botulinum* catalyse l'ADP-ribosylation de RhoA,B,C en Asn41, alors que Rac et Cdc42 sont des substrats médiocres.
- Au moins 7 C3-C3-like toxines (35-90% d'identité de séquence)
- Petit PM=25kDa, réduit à la sous-unité catalytique. Pas de domaine spécifique de translocation membranaire donc une accessibilité spontanée au cytosol cellulaire médiocre à l'exception des monocytes macrophages qui sont capables d'endoocyter et transloquer la toxine de manière pH-dépendante dans le cytosol avec beaucoup d'efficacité.
- Monocytes/Macrophages sont les cibles privilégiées *in vivo* (Fahrer J et al., 2010, Cell. Microbiol.)
- Les petites GTPases modifiées par C3 sont encore capables de lier leurs effecteurs. Cependant, RhoA ADP-ribosylé se fixe avec une haute affinité au GDI, ce qui bloque le cycle membrane-cytosol et prévient l'activation par les GEFs (Genth H et al., 2003, BBRC; Sehr P et al., 2003, J.Biol.Chem.)
- Le blocage de la signalisation RhoA-dépendante résulte en la destruction des fibres de stress et une redistribution massive de l'actine dans la cellule (Wiegers et al., 1991, Eur. J. Cell Biol.)

Inactivation des petites GTPases de la famille Rho par mono-O-glucosylation ou N-acétylglucosamination

Toxines A & B de *Clostridium difficile* (Just I et al., 1995, Nature)

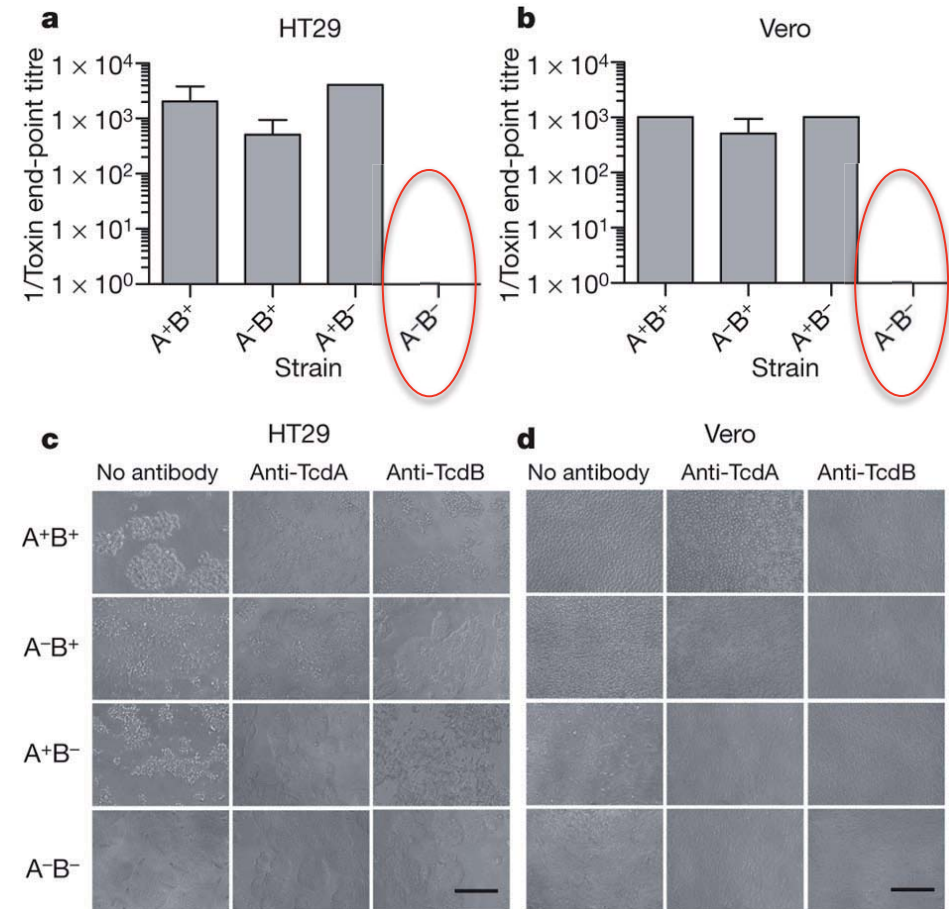
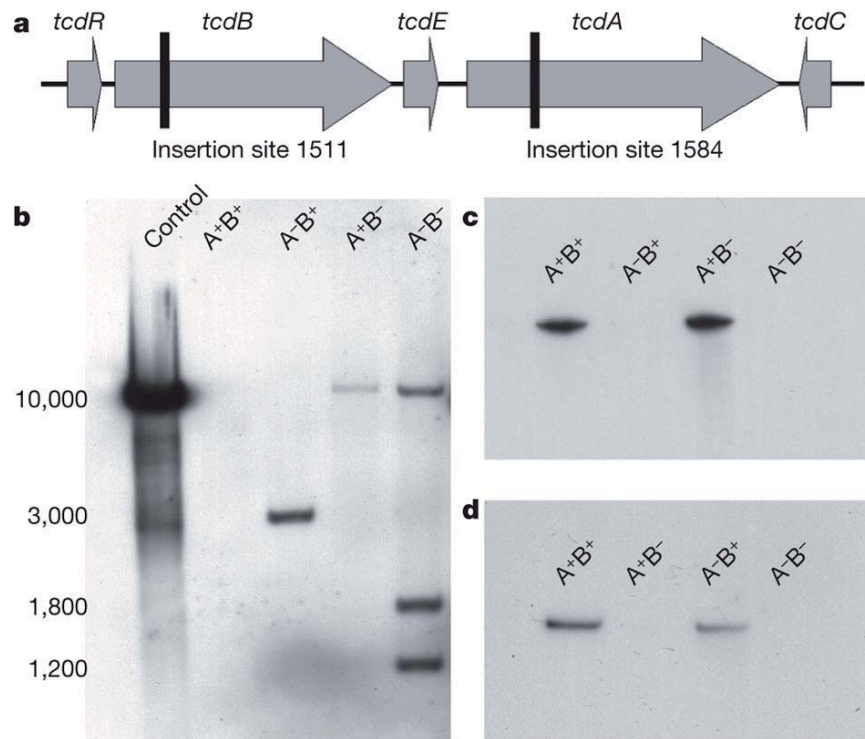
Modifient RhoA,B,C en Thr37, Rac et Cdc42 en Thr35

Après modification, les petites GTPases deviennent insensibles aux GEFs

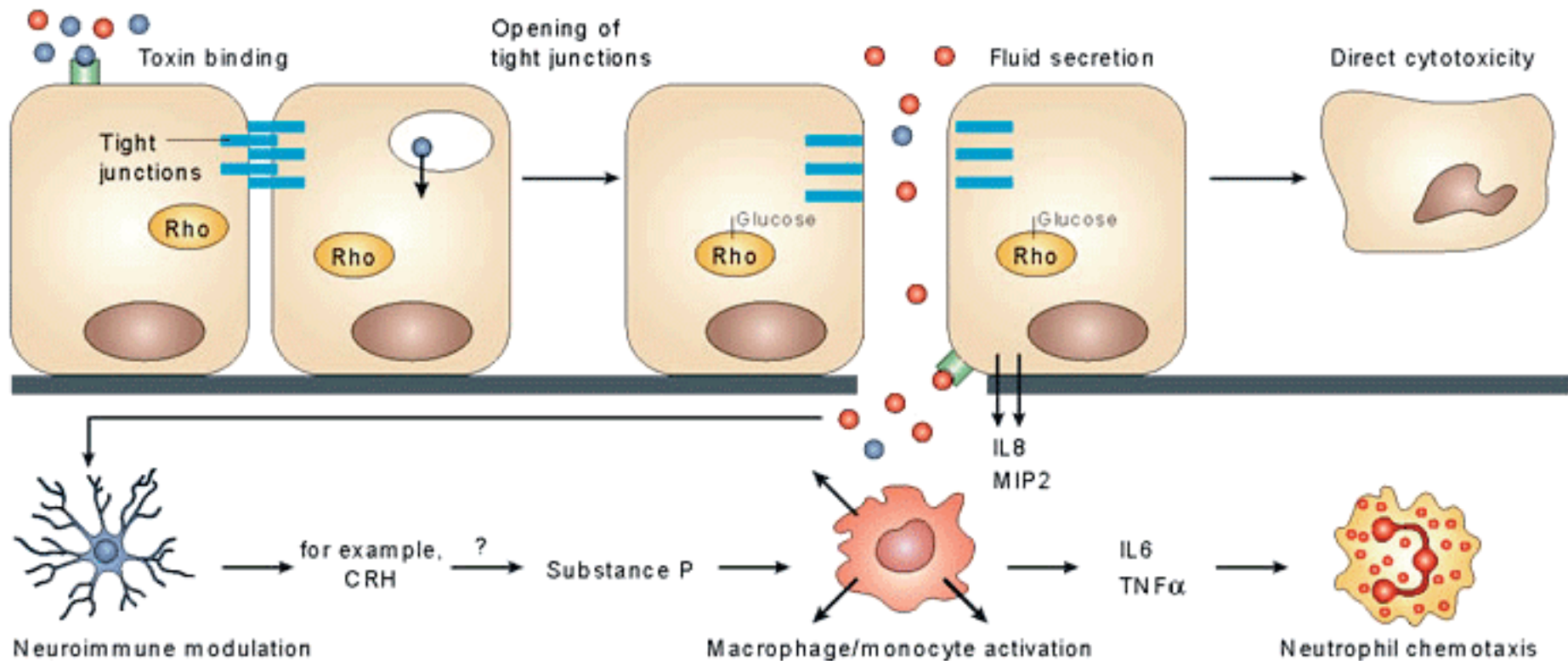


- C-term, domaine de liaison au récepteur de la cellule cible qui est LSR (Lipolysis-stimulated lipoprotein receptor) Papatheodorou et coll. 2011. PNAS
- « Delivery domain » (D) formant un pore au pH acide de l'endosome (PFR)
- Cystéine protéase responsable une fois transloquée et activée dans le cytosol (rôle de Inositol-hexakisphosphate) du clivage de la protéine et du la libération du domaine catalytique
- N-term, domaine catalytique

Construction et caractérisation de mutants atoxinogènes de *C. difficile*



Rôle des toxines A & B dans la pathogénicité de *C. difficile*: rupture de la barrière épithéliale



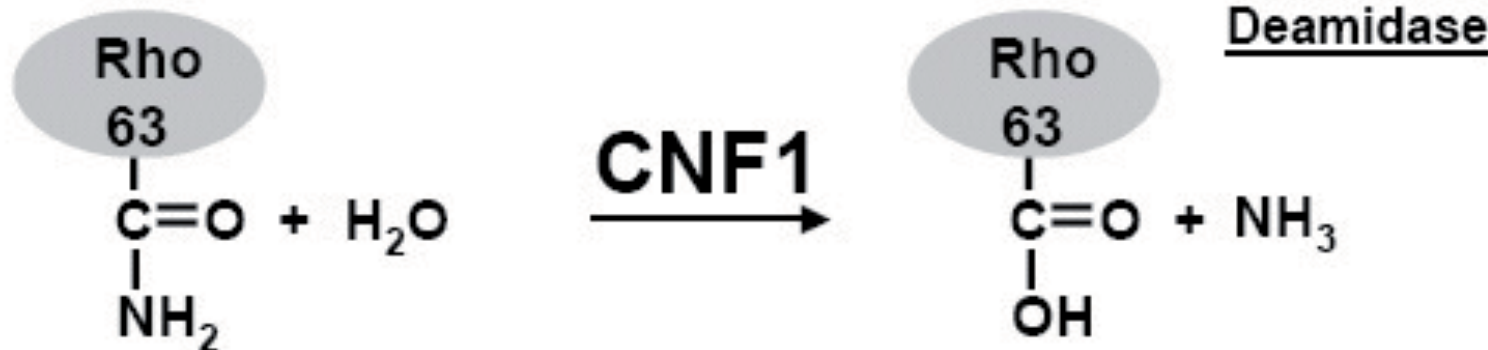
Nature Reviews | Microbiology

Activation des petites GTPases de la famille Rho par déamidation: CNF

Glutamine

Acide glutamique

Fig. 2



Cette modification d'acide aminé (équivalente d'une mutation) bloque l'hydrolyse du GTP et stabilise ainsi les GTPases Rho dans leur forme ACTIVE

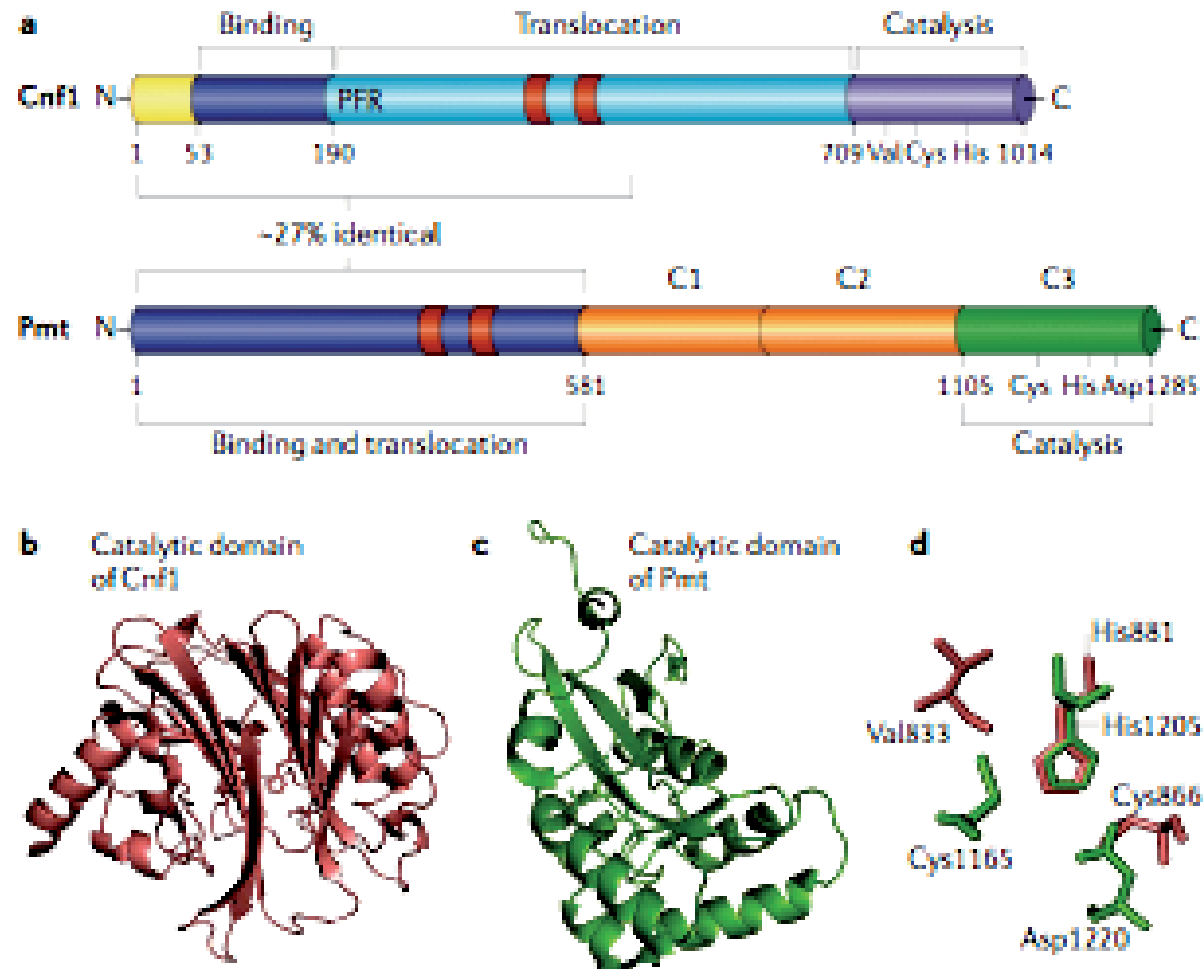
Schmidt G et al., 1997, Nature
Flatau G et al., 1997, Nature

NH₂

DNT

HN-R

Activation des petites GTPases de la famille Rho par déamidation

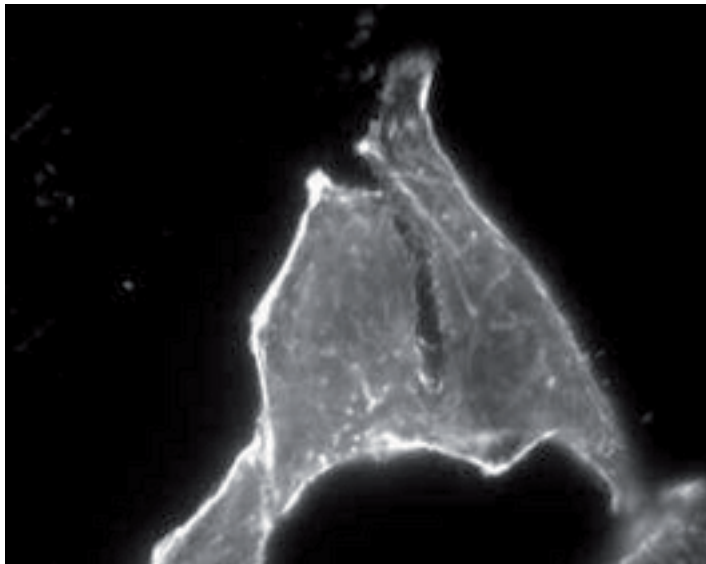


115 kDa

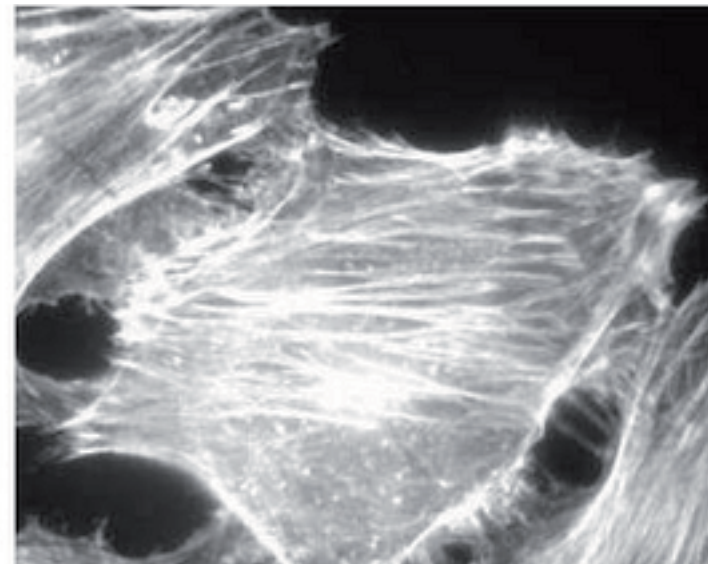
CNF1 se lie au récepteur de la laminine (Kim KJ et al., 2005, J.Biol.Chem.)
 Clivage protéolytique permet la translocation du fragment catalytique C-term.
 dans le cytosol (Knust Z et al., Infect.Immun., 2009)

Activation des petites GTPases de la famille Rho par déamidation

CNF -



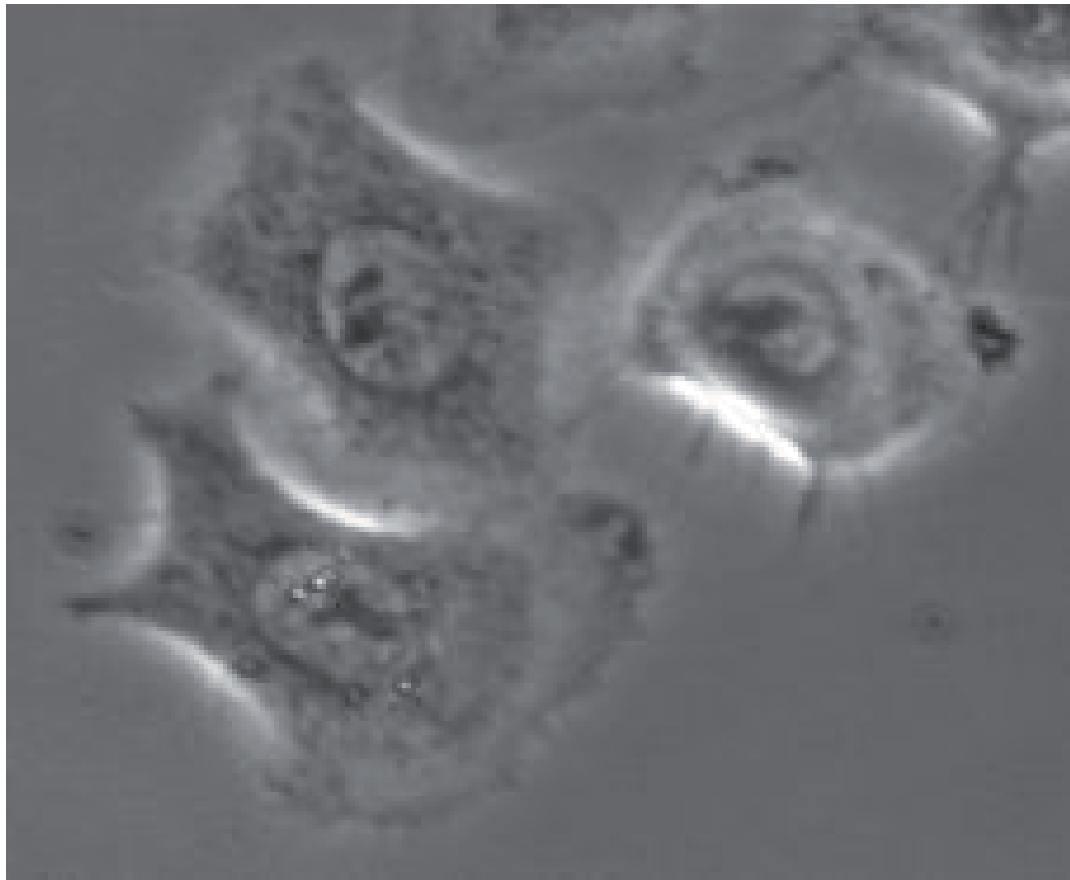
CNF 3 +



CNF1,2 activent un large spectre de petites GTPases de la famille Rho, en particulier RhoA, Rac et Cdc42

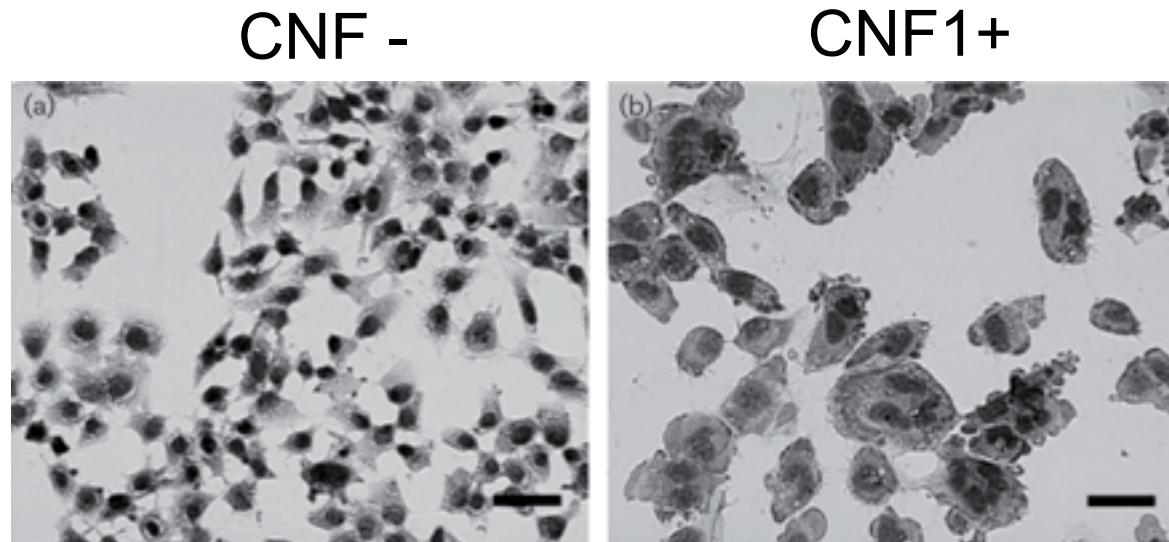
CNF3 et CNF de *Y. pseudotuberculosis* sont très spécifiques de RhoA (Hoffmann C et al., 2004, J.Biol.Chem).

Modifications cellulaires complexes induites par CNF1 (0-120 mn)
Ces modifications dynamiques traduisent l'activation
des trois grandes catégories de GTPases: Rho, Rac et Cdc42



P. Boquet et coll.

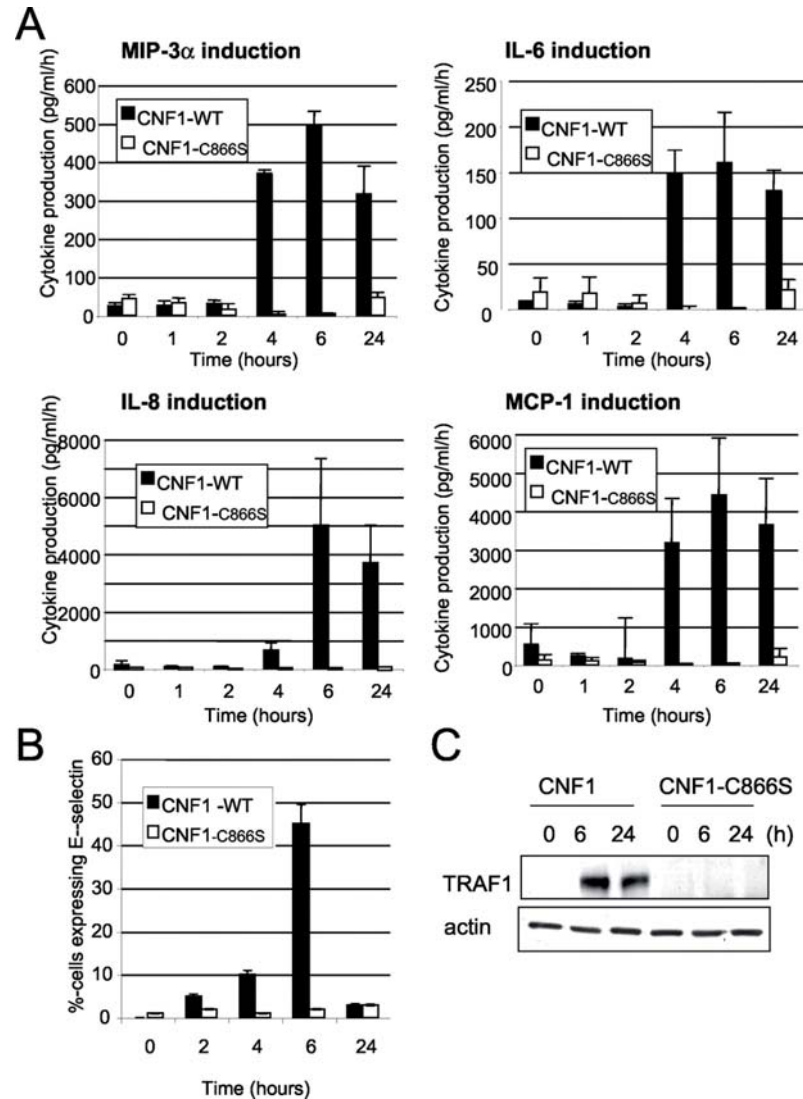
Activation des petites GTPases de la famille Rho par déamidation



CNF1 induit la formation de cellules multinucléées, probablement par
Inhibition de la cytokinèse (Oswald, E et al., 1989, FEMS Microbiol. Lett., 1989)
Découplage de la phase S de la mitose (Denko N et al., 1997, Exp.Cell Res.)
Catastrophe mitotique (Malorni W & Fiorentini C, 2006, FASEB J.)

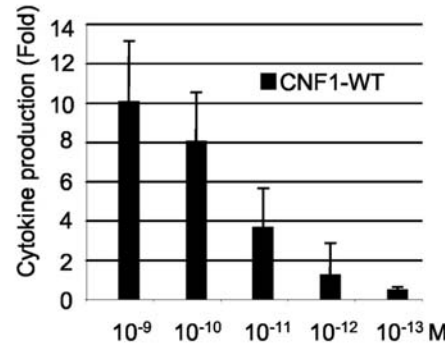
Les CNF induisent la polyubiquitination et dégradation subséquente par le
protéasome des petites GTPases affectées par la déamidation
(Doye A et al., 2002, Cell).

Spécificité de la réponse innée induite au niveau de cellules HUVEC traitées par CNF-1 pendant 1h (Titrages des cytokines/chimiokines par ELISA)

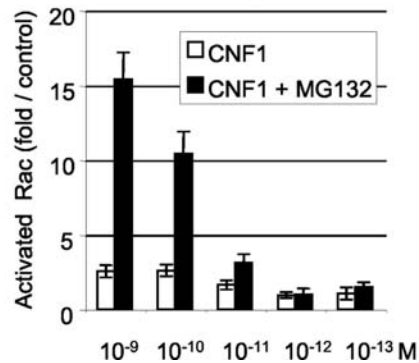
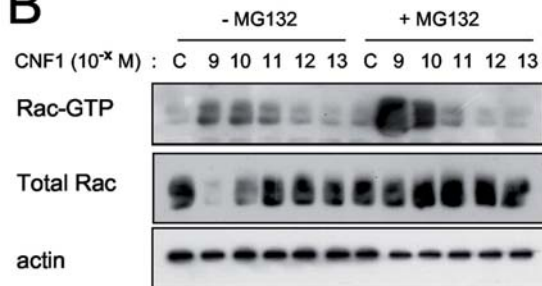


Relation entre la dégradation par le protéasome de Rac activé par CNF-1 et induction de la production de MCP-1

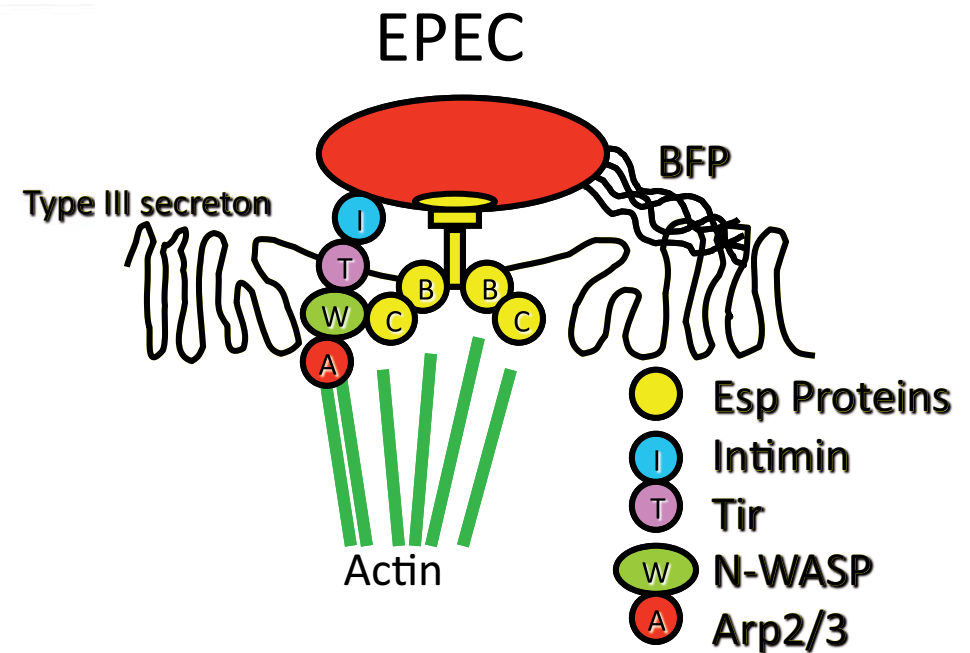
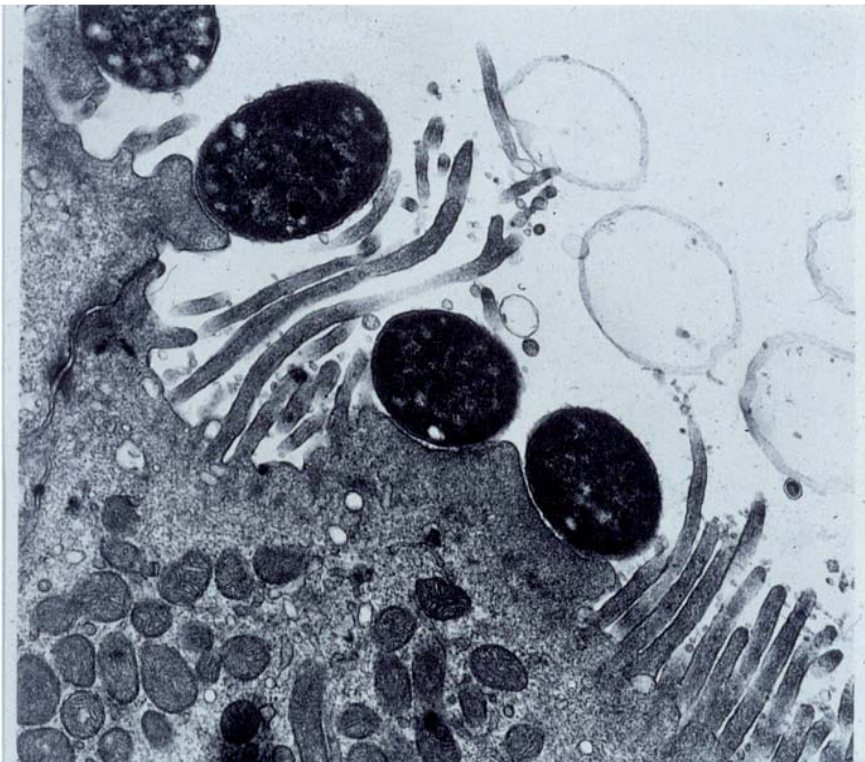
A



B

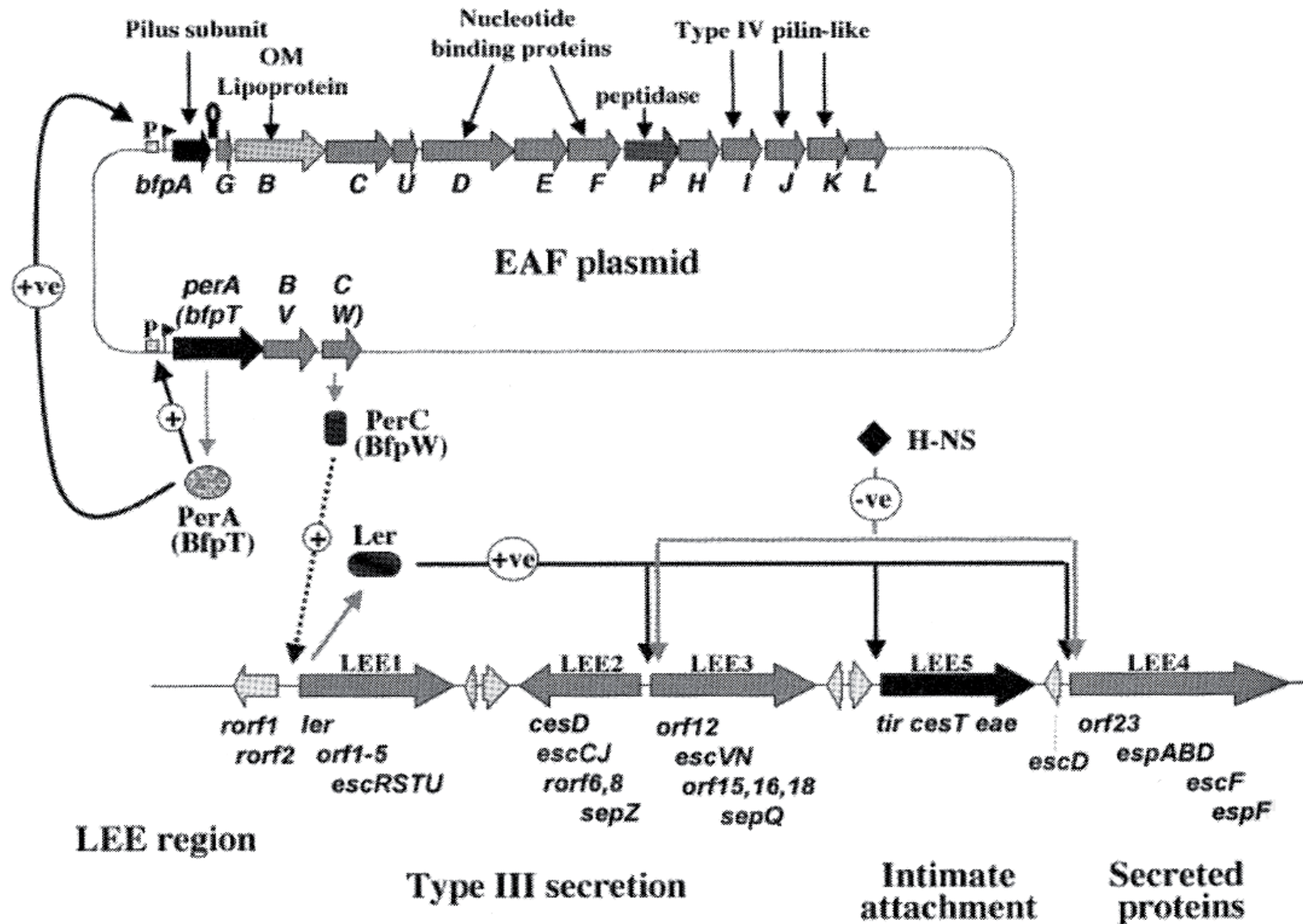


Remodelage du cytosquelette de l'apex des cellules épithéliales par EPEC



« ATTACHING-EFFACING EFFECT »
Formation d'un piédestal

Organisation des gènes de virulence d'EPEC et leur régulation



Mode d'entrée des bactéries invasives dans les cellules épithéliales

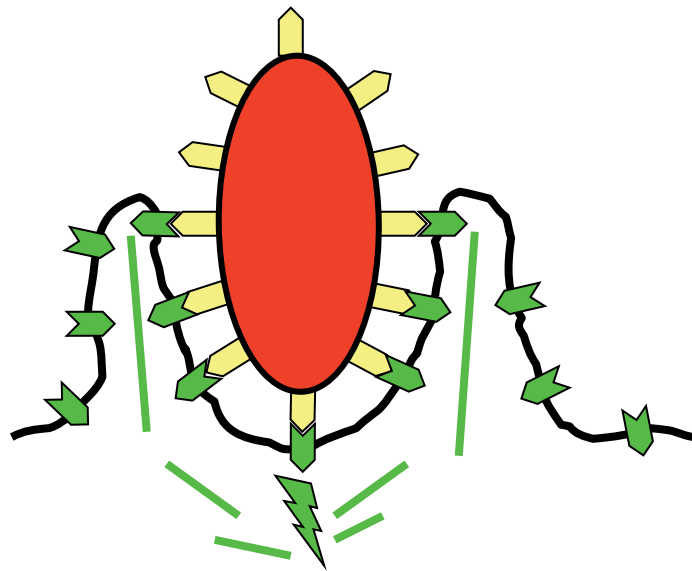
« ZIPPERING »

Yersinia pseudotuberculosis (Inv)

Liaison de haute affinité de l'invasine de surface (Inv) avec les intégrines de la famille $\beta 1$

Listeria monocytogenes

Liaison de l'Internaline de surface (InlA) avec l'E-cadhérine humaine



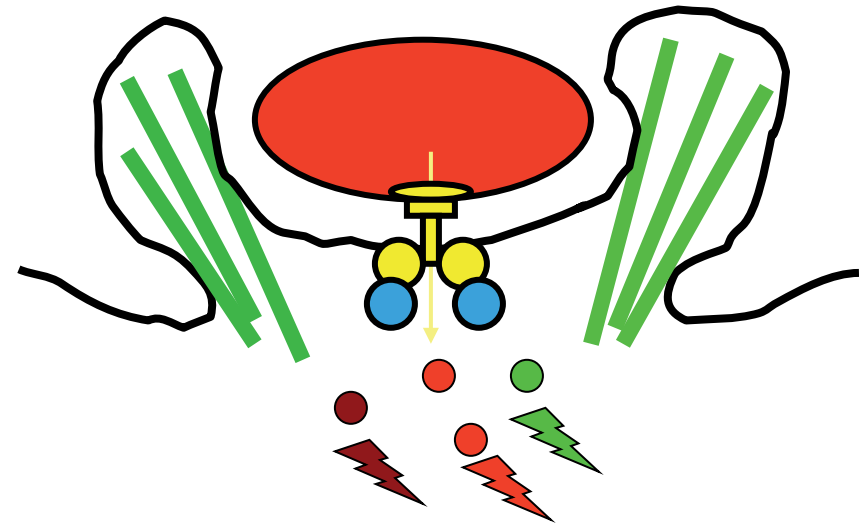
Signalisation au cytosquelette
réarrangements +
internalisation

« TRIGGERING »

Shigella / *Salmonella*

TTSS

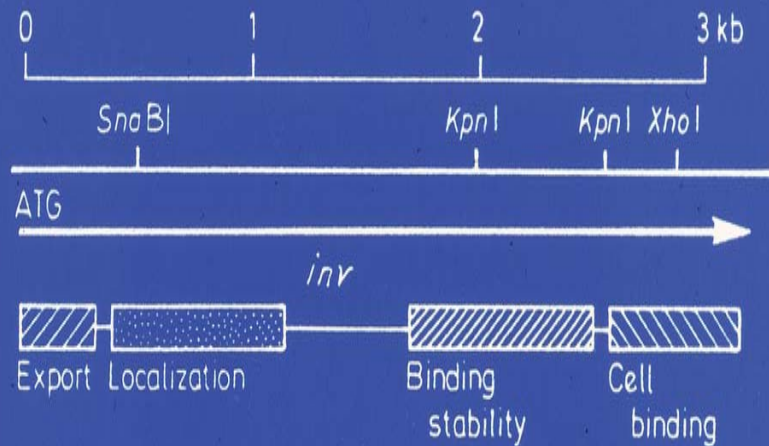
Sécrétion / Translocation
de protéines (toxines) effectrices



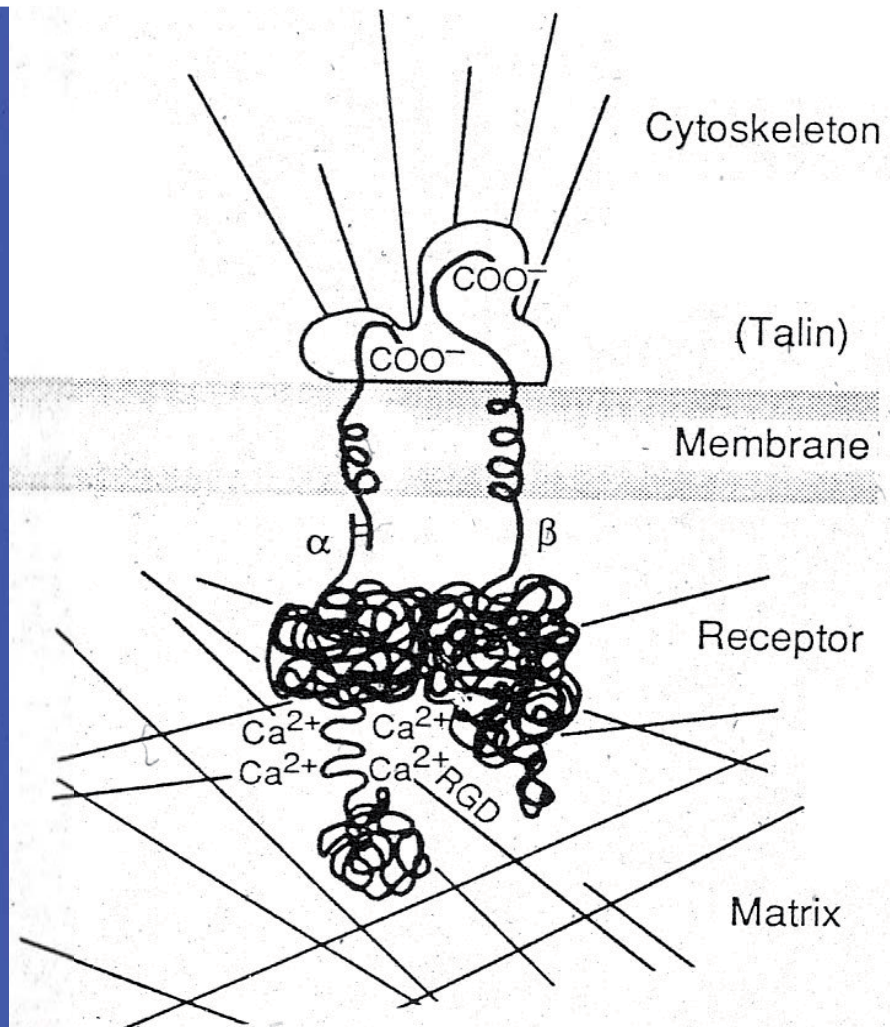
Signalisation au cytosquelette,
Réarrangements + + + +,
internalisation

Invasine (Inv) de *Yersinia pseudotuberculosis*

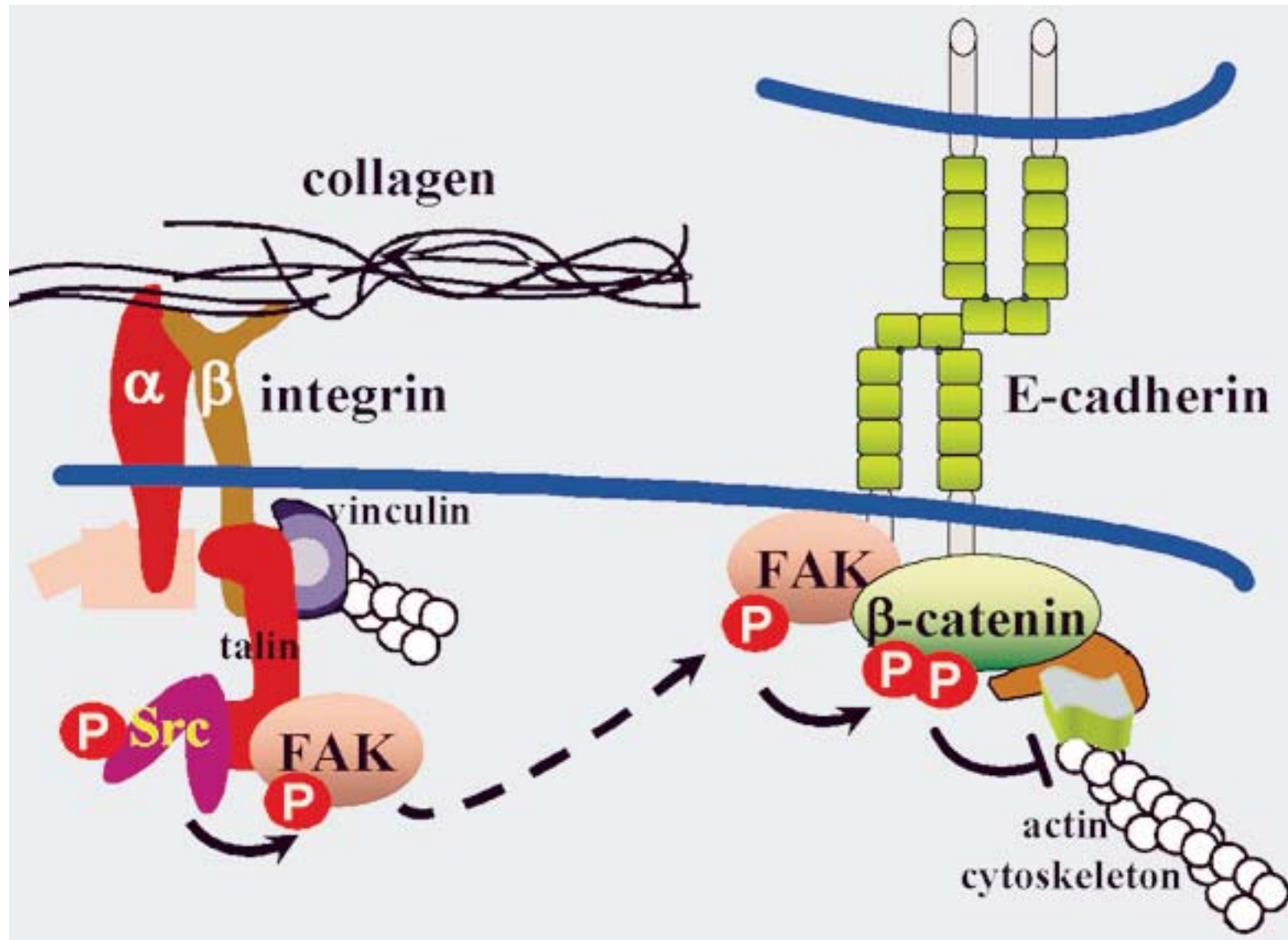
Isberg R et coll. 1985, Nature



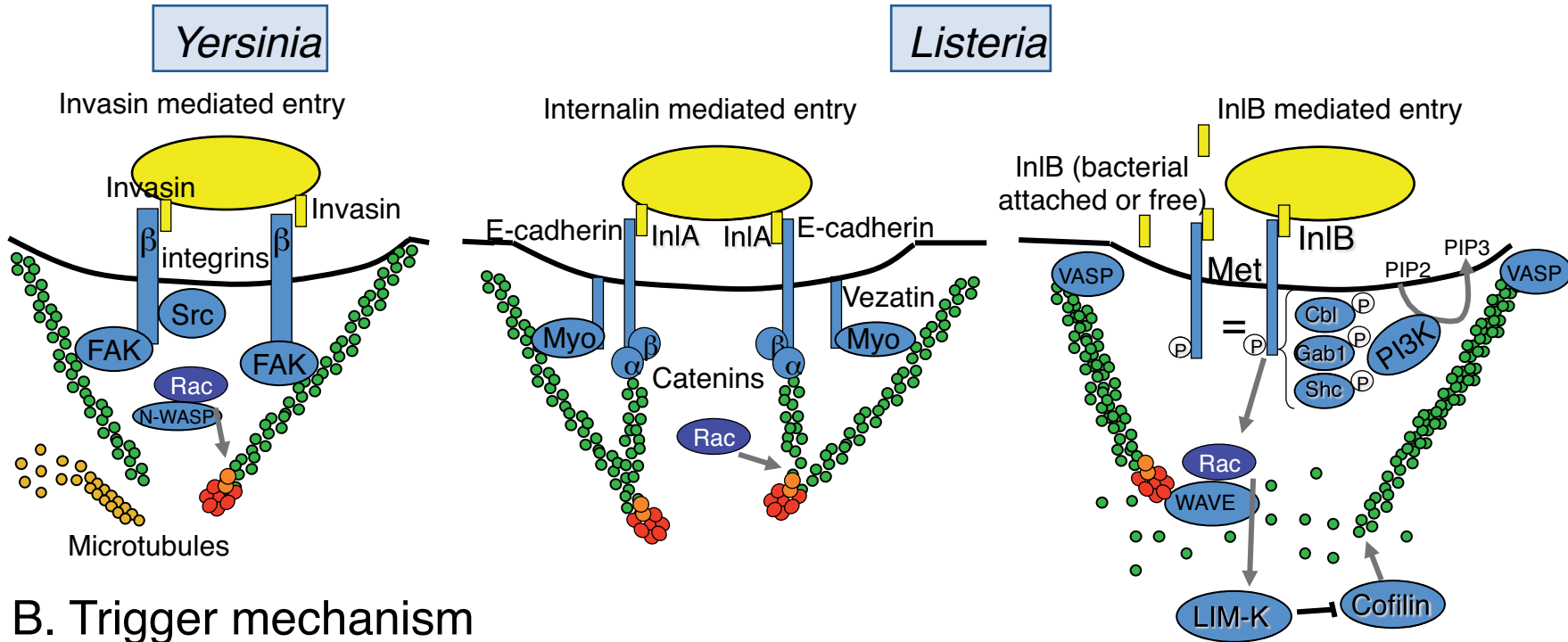
Invasin = 103 kDa OMP
198 C-terminal aa assurent la
liaison au
 β domaine des
intégrines β 1



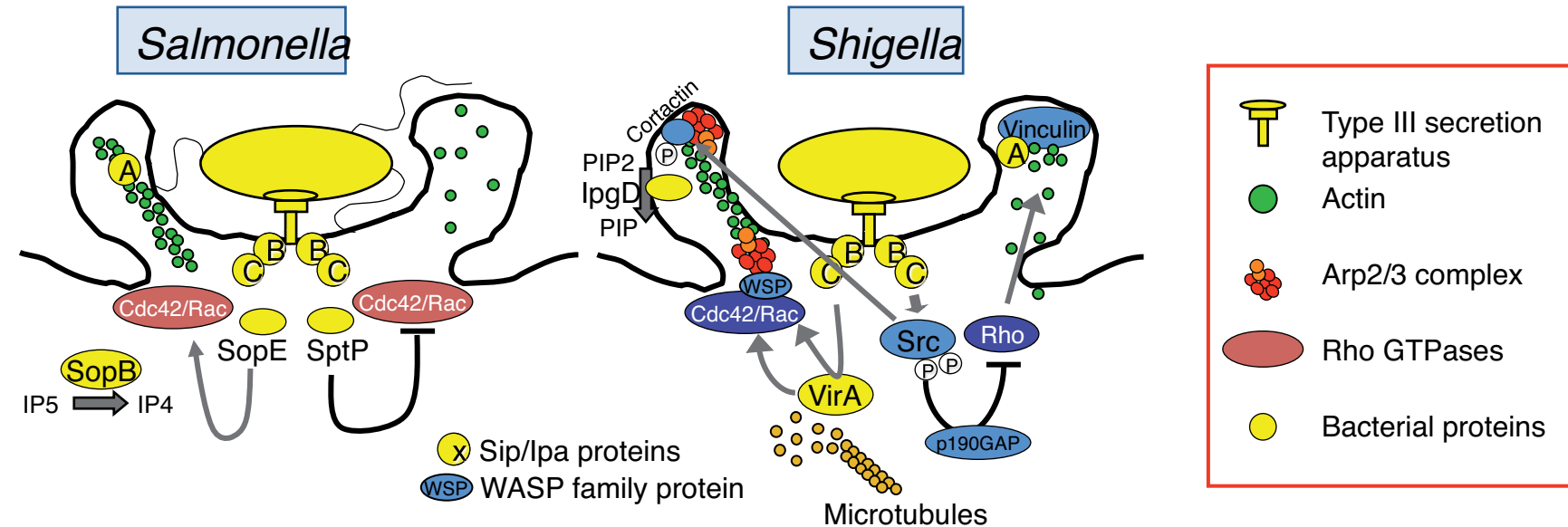
Les bactéries entrant par « Zippering » miment / caricaturent des interactions physiologiques



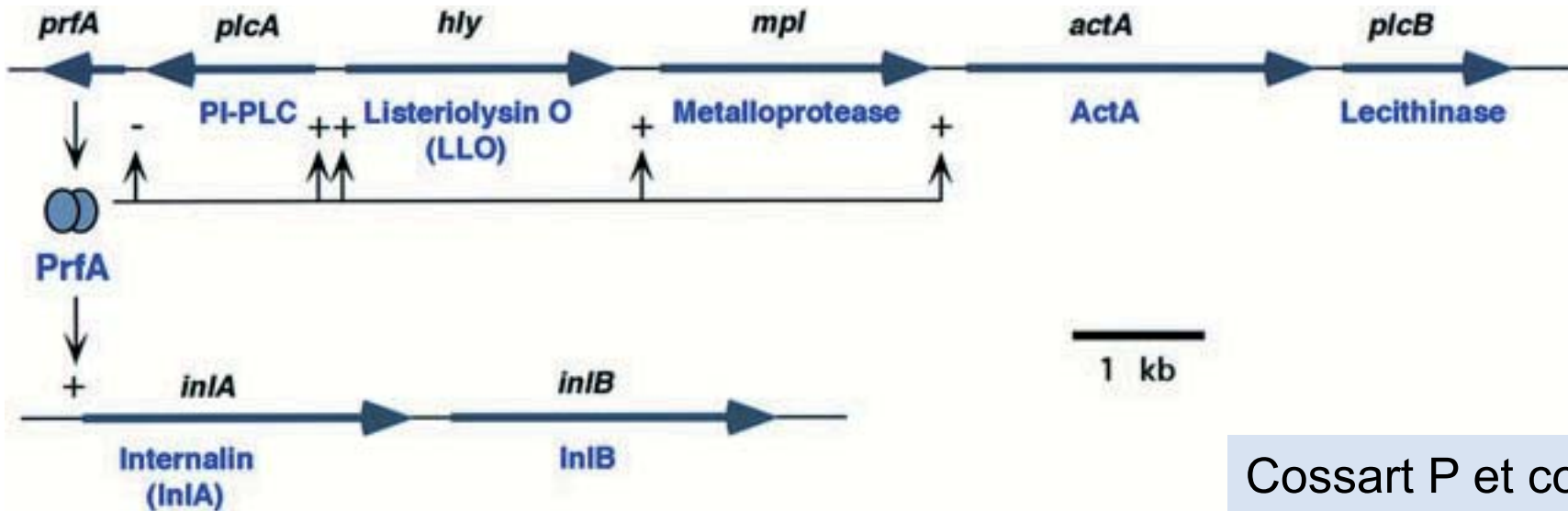
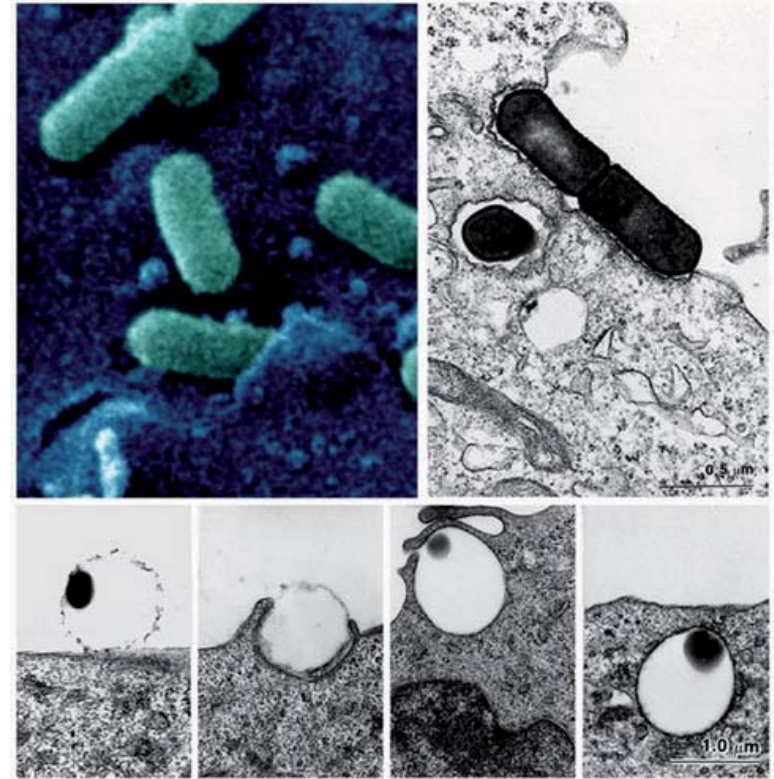
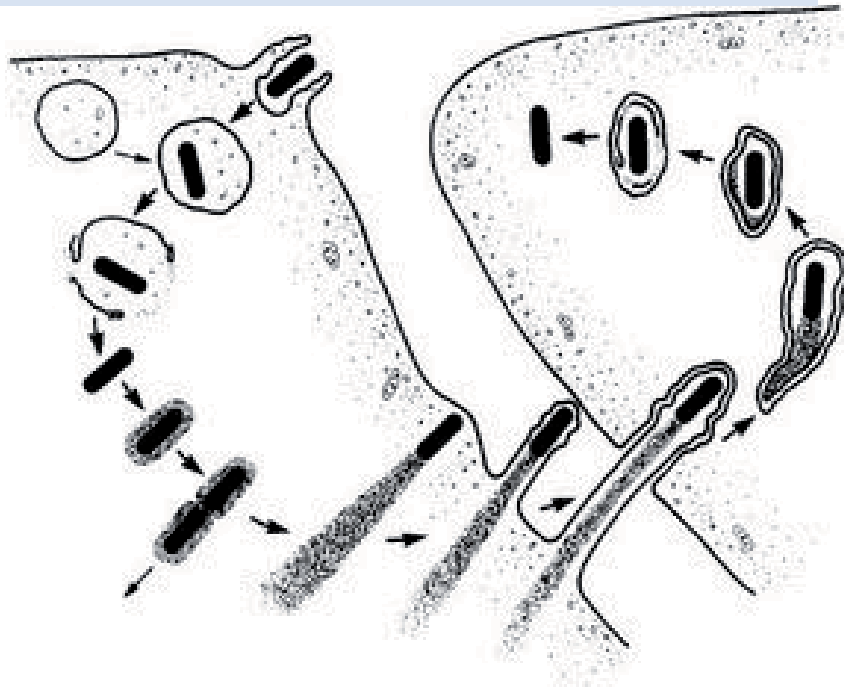
A. Zipper mechanism



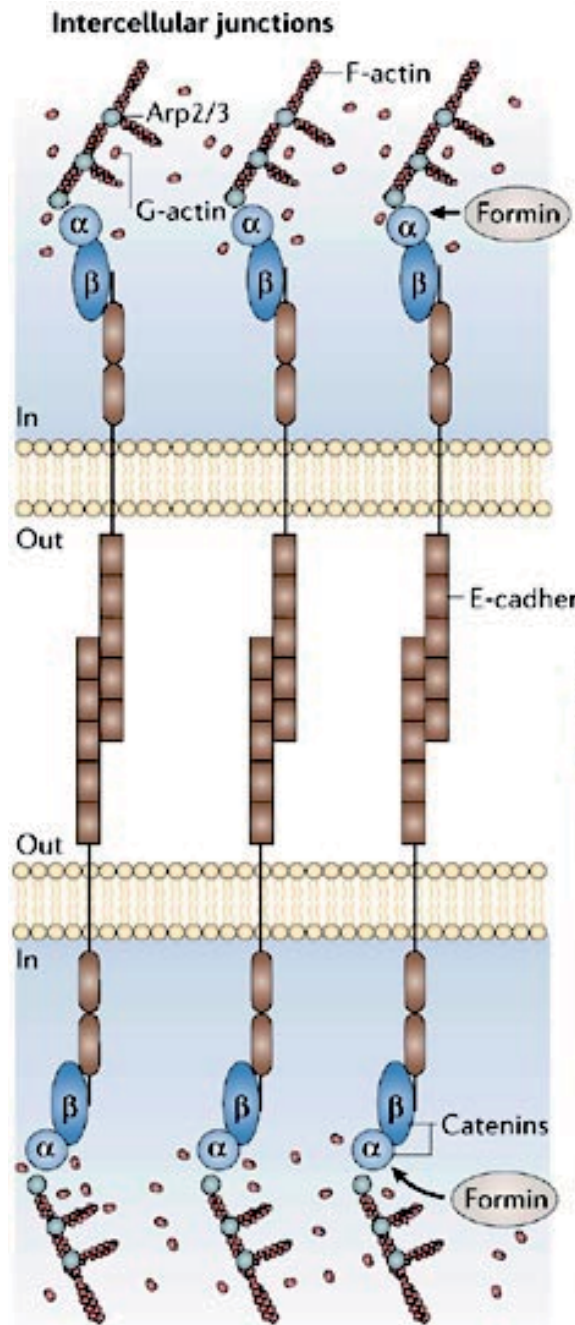
B. Trigger mechanism



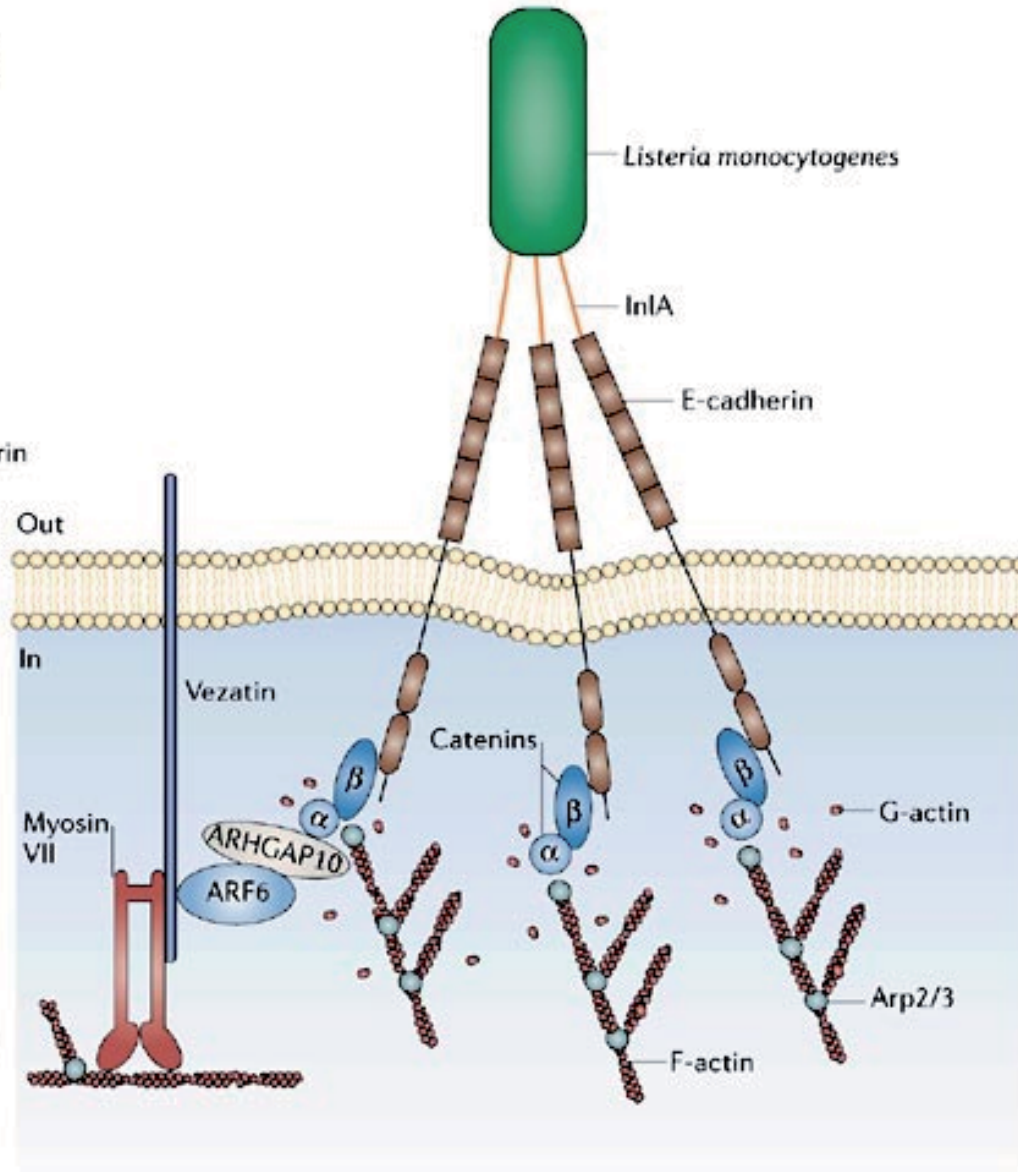
Invasion des cellules épithéliales par *Listeria monocytogenes*



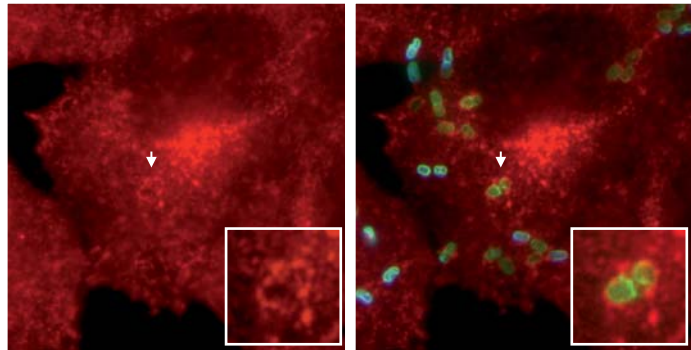
Cossart P et coll.



Entrée InIA-dépendante de *L. monocytogenes* dans les cellules épithéliales

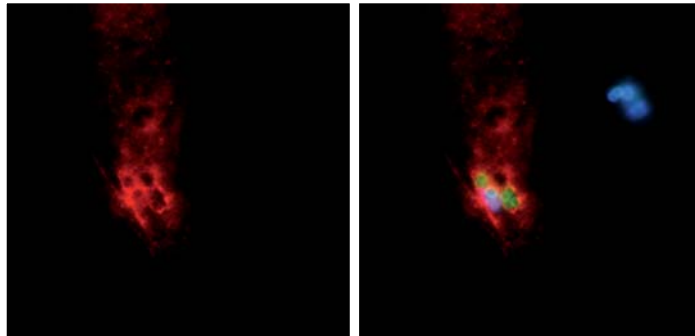


Clathrin-dependent internalization is a widespread mechanism for bacterial invasion



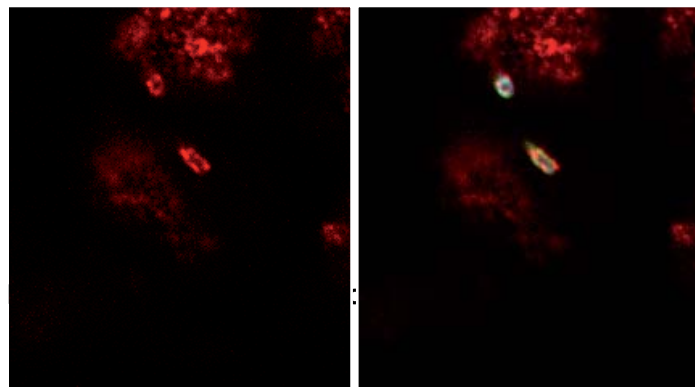
Clathrin

Clathrin + *E. coli inv*



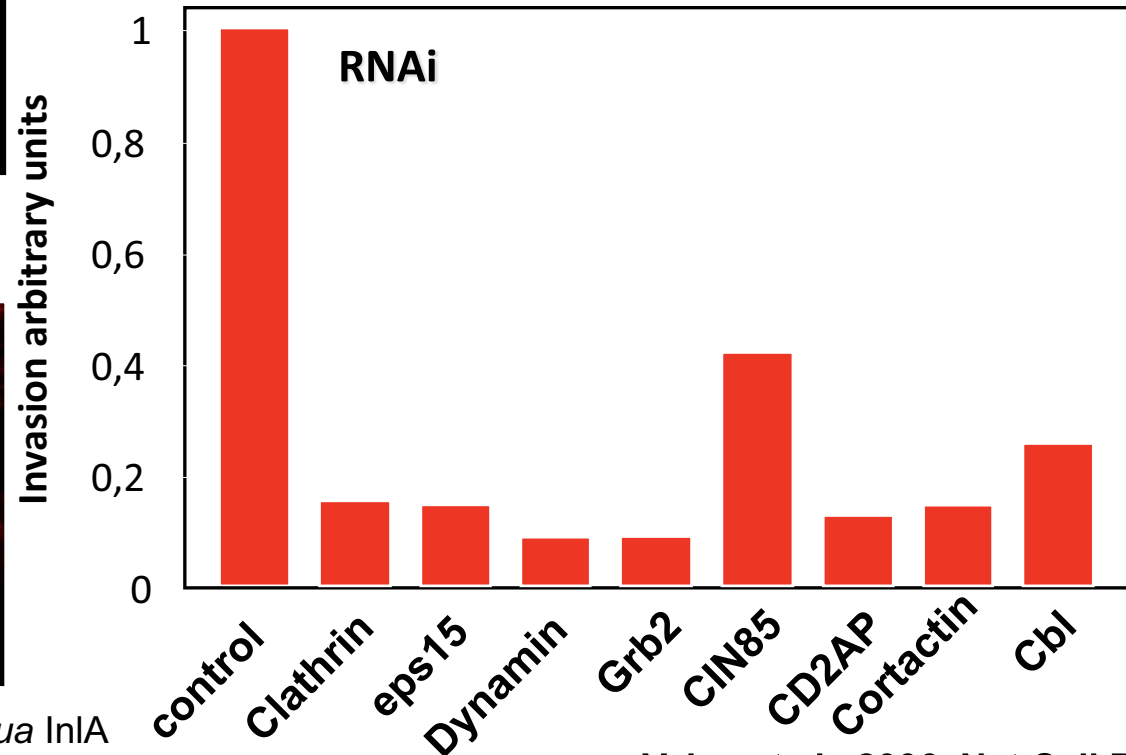
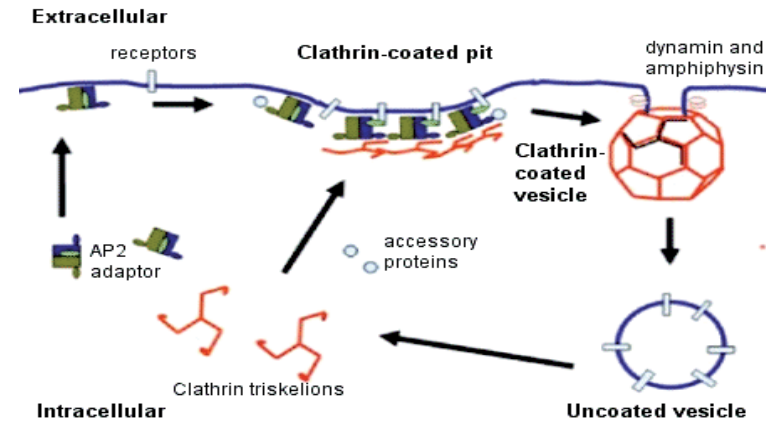
Clathrin

Clathrin + *S. aureus*



Clathrin

Clathrin + *Listeria innocua* InA



Veiga et al., 2006, Nat.Cell Biol.

Toxines bactériennes affectant le cytosquelette d'actine de la cellule

Deux types de toxines bactériennes affectant le cytosquelette:

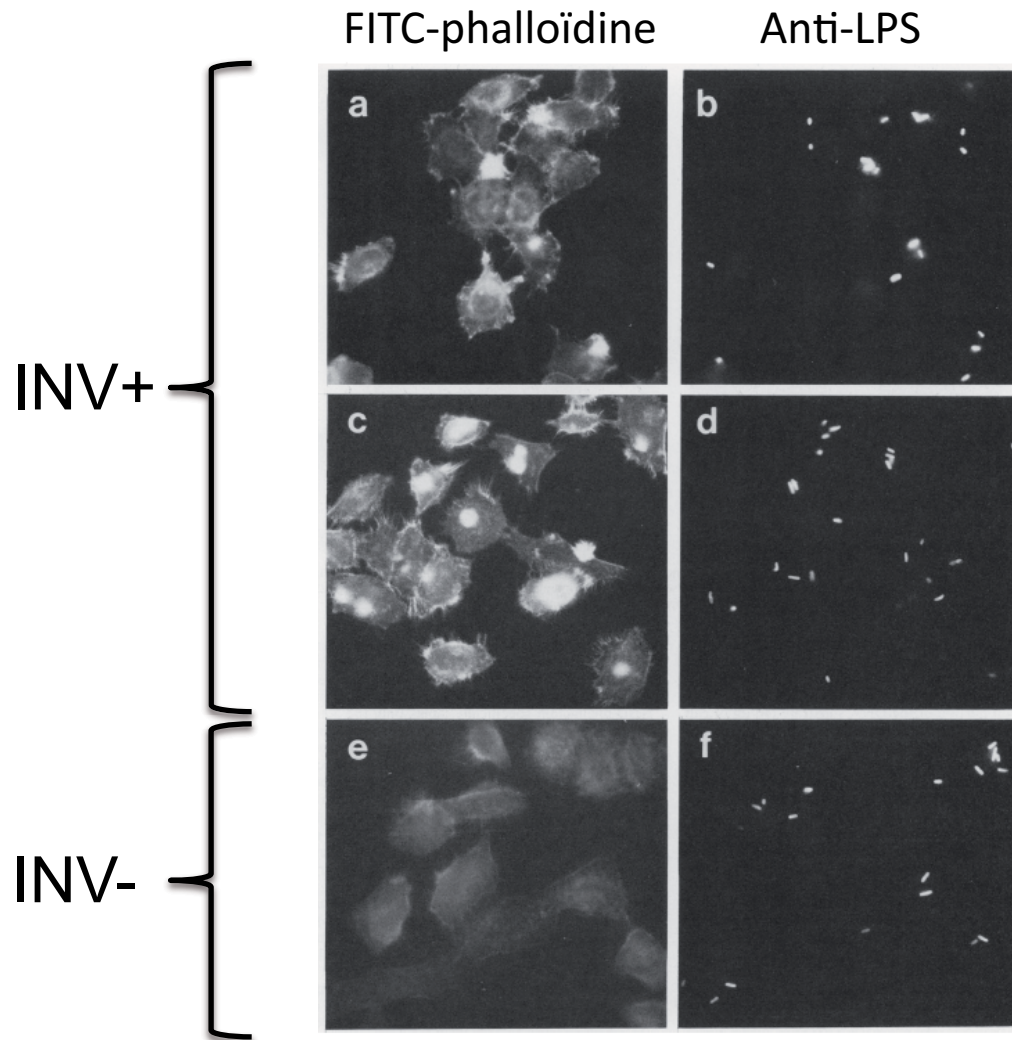
Toxines (enzymes) entraînant une modification covalente irréversible de composants essentiels de la dynamique du cytosquelette, en particulier les petites GTPases de la famille Rho.

- Fonctions inhibitrices (C3, ToxA&B, Lethal toxin, YopT)
- Fonctions activatrices (CNFs)

Toxines modifiant/régulant/mimant les fonctions de régulateurs clés de la dynamique du cytosquelette « GEF-like », « GAP-like ». Effecteurs sécrétés par TTSS & TFSS.

Entry of *Shigella flexneri* into HeLa cells: evidence for directed phagocytosis involving actin polymerization and myosin accumulation.

P Clerc and P J Sansonetti
Infect. Immun. 1987, 55(11):2681.

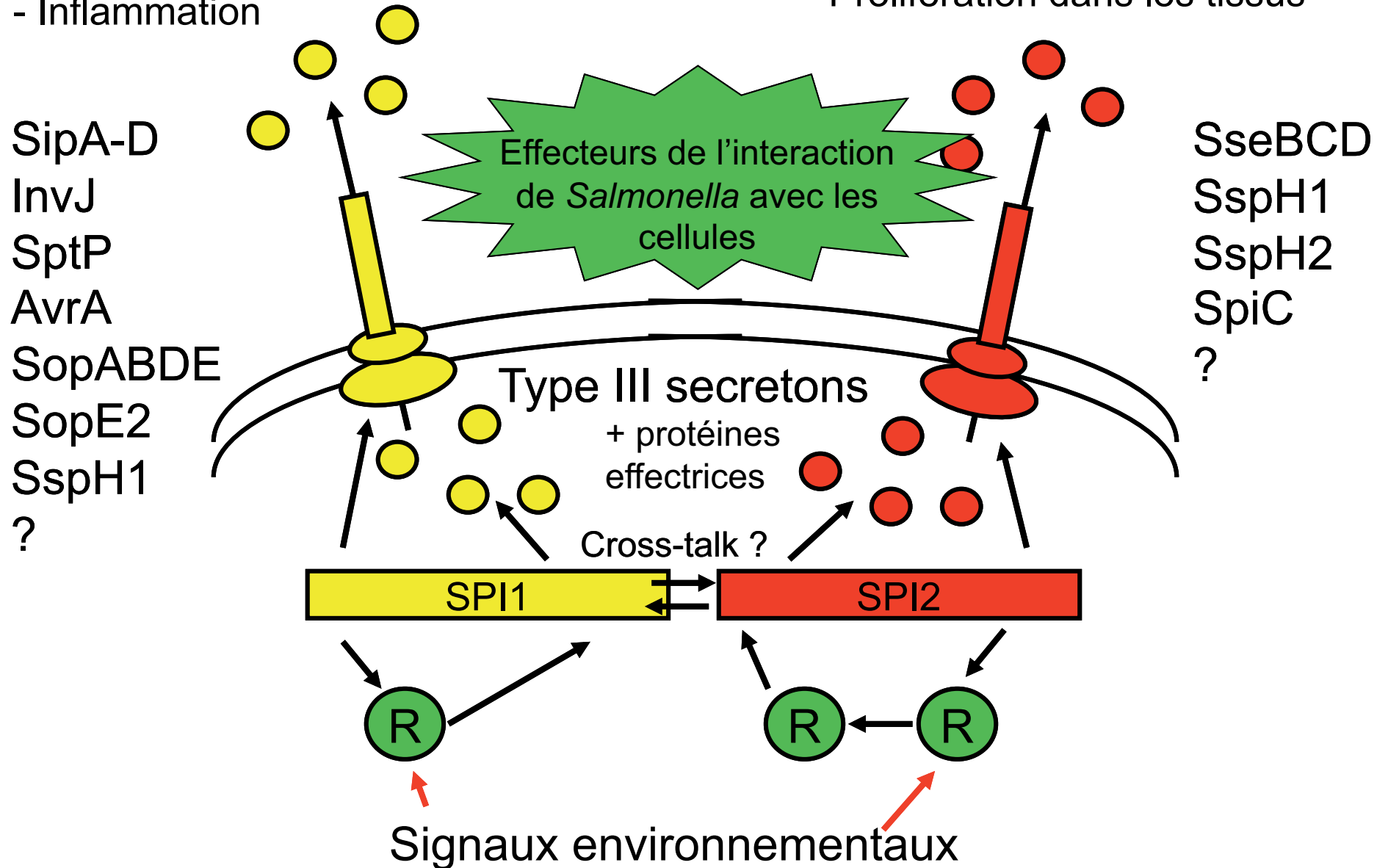


Effectors	Source organisms	Mode of action	Target GTPases	Refs
Activators				
SopE and SopE2	<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serovar Typhimurium	GEF	RAC proteins and CDC42	21
BopE	<i>Burkholderia pseudomallei</i>	GEF	RAC proteins and CDC42	146
IpgB1	<i>Shigella flexneri</i>	GEF	RAC proteins and CDC42	24,25
IpgB2	<i>S. flexneri</i>	GEF	RHOA, RAC proteins and CDC42	26
Map	<i>Escherichia coli</i> (EHEC and EPEC)	GEF	CDC42	147
EspM1, EspM2 and EspM3	<i>E. coli</i> (EHEC and EPEC) and <i>Citrobacter rodentium</i>	GEF	RHOA	27,148
EspT	<i>E. coli</i> (EPEC) and <i>C. rodentium</i>	GEF	RAC proteins and CDC42	28
SifA and SifB	<i>S. Typhimurium</i>	GEF	RHO proteins?	29
DrrA (also known as SidM)	<i>Legionella pneumophila</i>	GEF	RAB1A	33,34
EspG	<i>E. coli</i> (EHEC)	Blocks ARFGAP binding	ARF1	35
Inhibitors				
SptP	<i>S. Typhimurium</i>	GAP	RAC proteins and CDC42	37
YopE	<i>Yersinia pseudotuberculosis</i> , <i>Yersinia enterocolitica</i> and <i>Yersinia pestis</i>	GAP	RHO proteins, RAC proteins and CDC42	38,87
ExoS and ExoT	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	GAP	RHO proteins, RAC proteins and CDC42	39,40
AexT	<i>Aeromonas salmonicida</i>	GAP	RHO proteins, RAC proteins and CDC42	42
LepB	<i>L. pneumophila</i>	GAP	RAB1	43

ARF1, ADP-ribosylating factor 1; ARFGAP, ARF-specific GAP; CDC42, cell division cycle 42; EHEC, enterohaemorrhagic *E. coli*; EPEC, enteropathogeni *E. coli*; Exo, exoenzyme; GAP, GTPase-activating protein; GEF, guanine nucleotide exchange factor.

- Réarrangements du cytosquelette
- Entrée dans les cellules
- Apoptose des macrophages
- Inflammation

- Dissémination systémique
- Prolifération intracellulaire
- Remodelage de la vacuole
- Prolifération dans les tissus



SipA-D
 InvJ
 SptP
 AvrA
 SopABDE
 SopE2
 SspH1
 ?

SseBCD
 SspH1
 SspH2
 SpiC
 ?

Effecteurs de l'interaction
 de *Salmonella* avec les
 cellules

Type III secretons
 + protéines
 effectrices

Cross-talk ?

SPI1

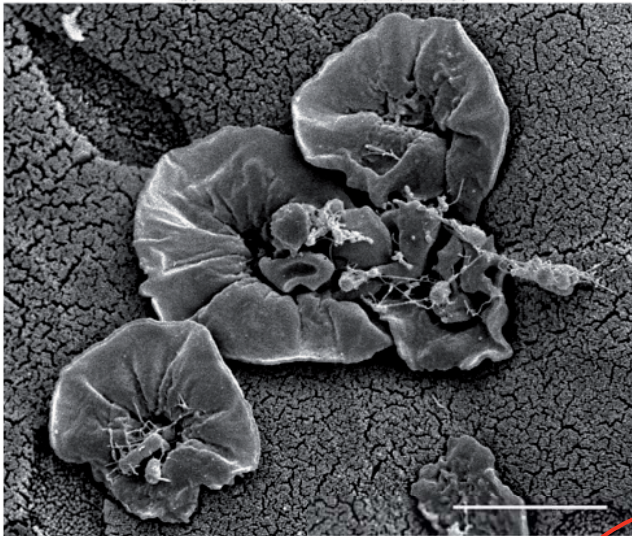
SPI2

R

R

R

Signaux environnementaux



Salmonella typhimurium: des effecteurs GEF-like et GAP-like

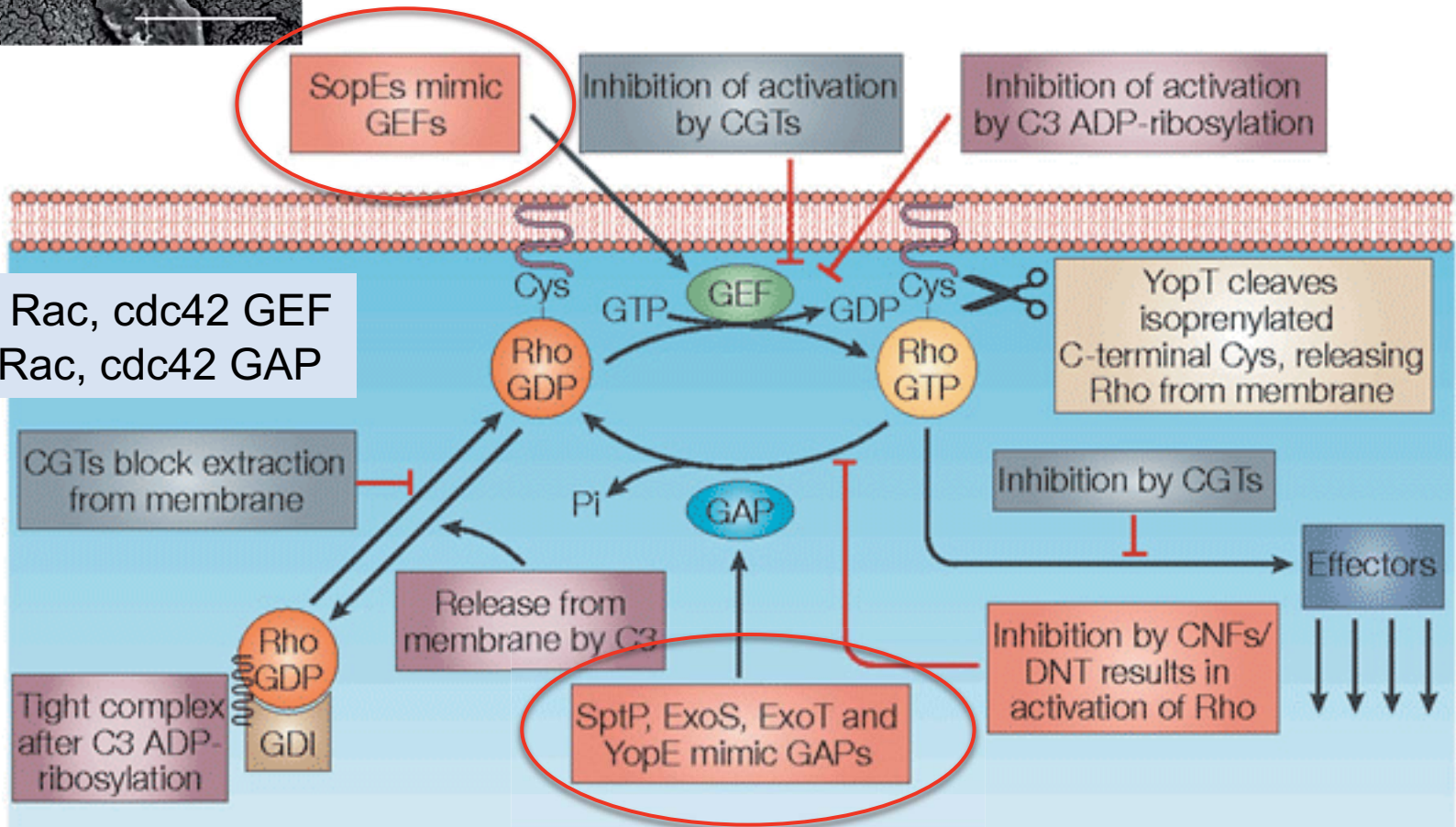
Galan JE et coll. 2009. Cell Host & Microbe

Hardt et coll. 1998. Cell

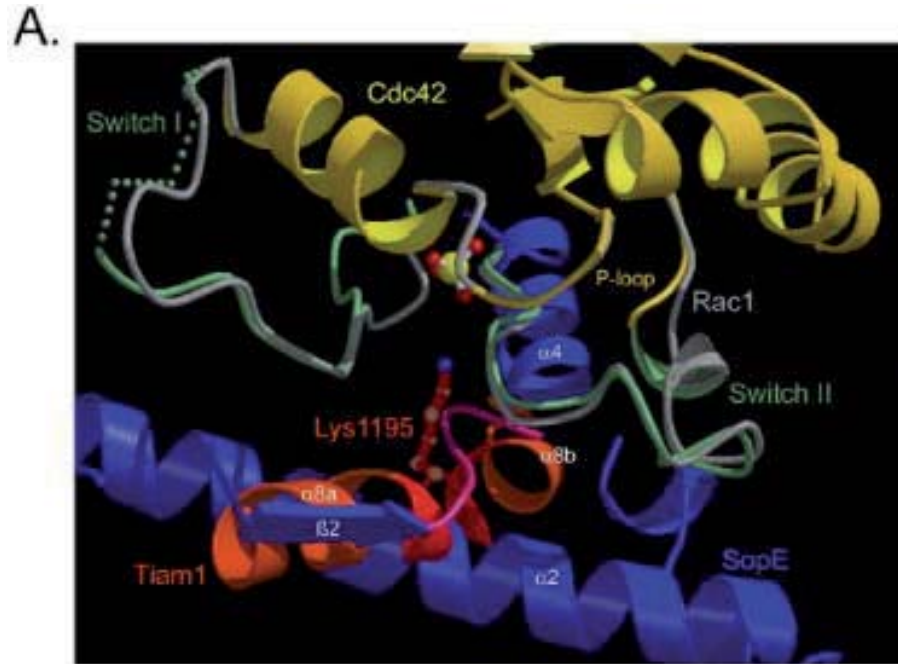
Stender S et coll. 2000. Mol. Microbiol.

Patel JC & Galan JE. 2006. J. Cell Biol.

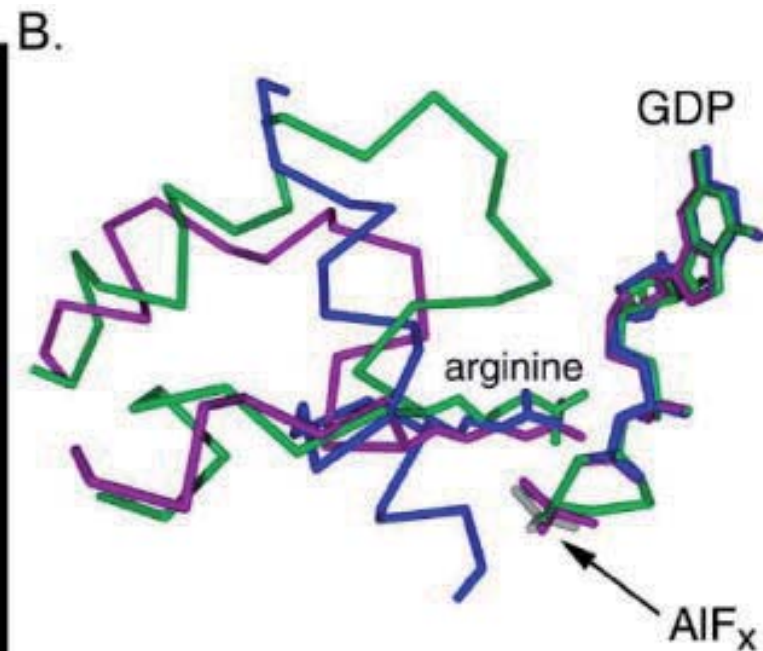
SopE = Rho, Rac, cdc42 GEF
SptP = Rho, Rac, cdc42 GAP



Identité de fonction enzymatique sans identité structurale:
convergence évolutive fonctionnelle ?

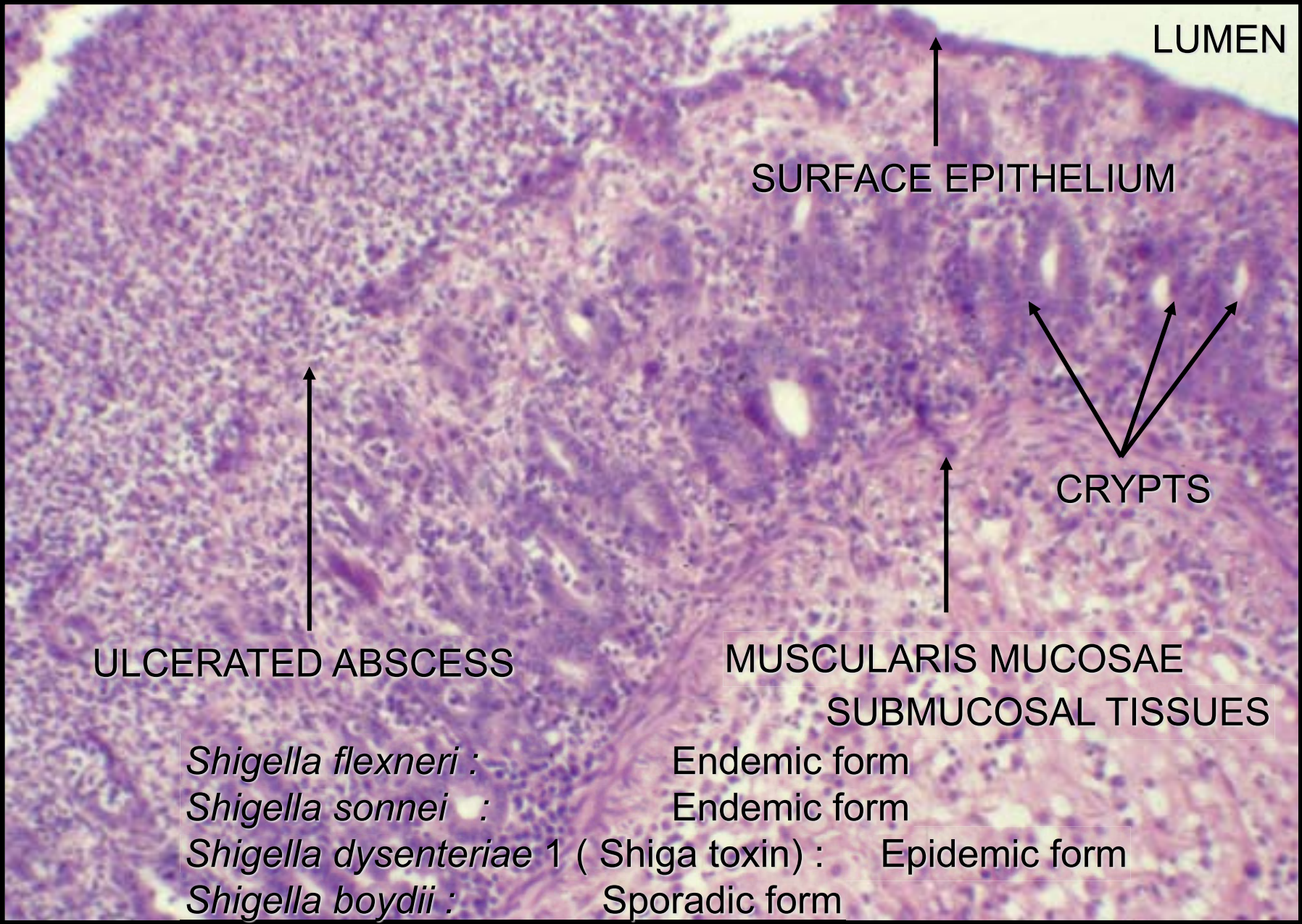


SopE mime les GEF de la famille Rho
Ex.: Tiam1 pour Rac1



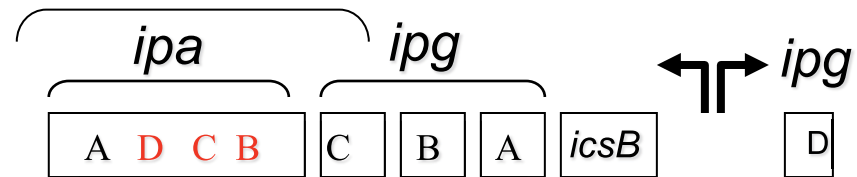
SptP mime les GAP de la famille Rho
Arg clé présente + GDP bien que le reste
de la structure soit différent

HISTOPATHOLOGY OF SHIGELLOSIS ELEMENTARY LESIONS IN HUMAN COLON

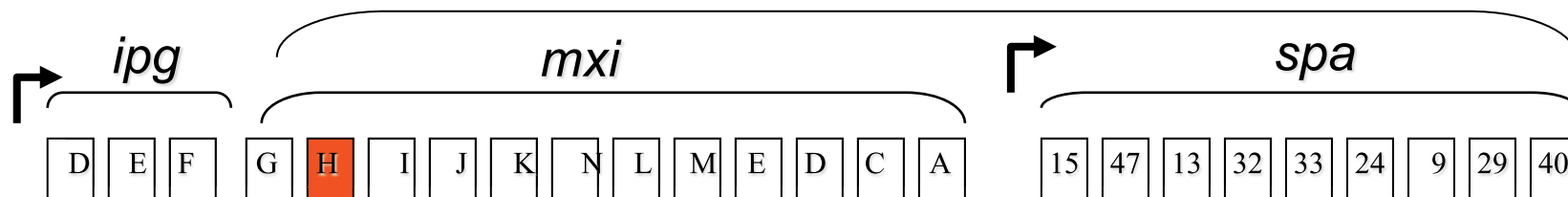


L'îlot de pathogénicité de *Shigella*

Effecteurs d'entrée



Sécrétion and Exportation des Ipa: TTSS

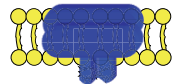


Visualization of the
T3S needle tip in a Shigella
WT and an IpaD mutant

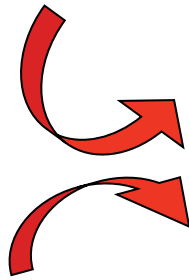
anti-IpaB and anti-IpaD
Abs cross-link T3S
needles of MxiA

Model of assembly of the TTSS

Outer membrane ring
(secretin/pilotin)

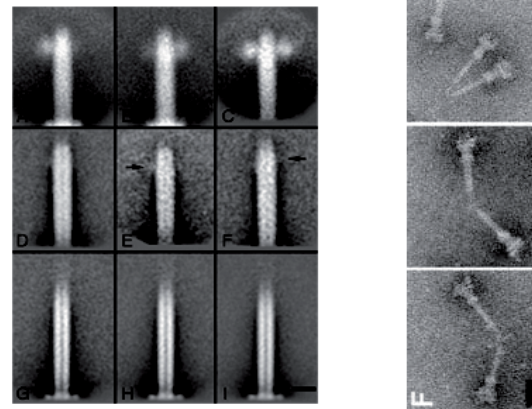
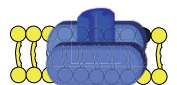


MxiD
MxiM

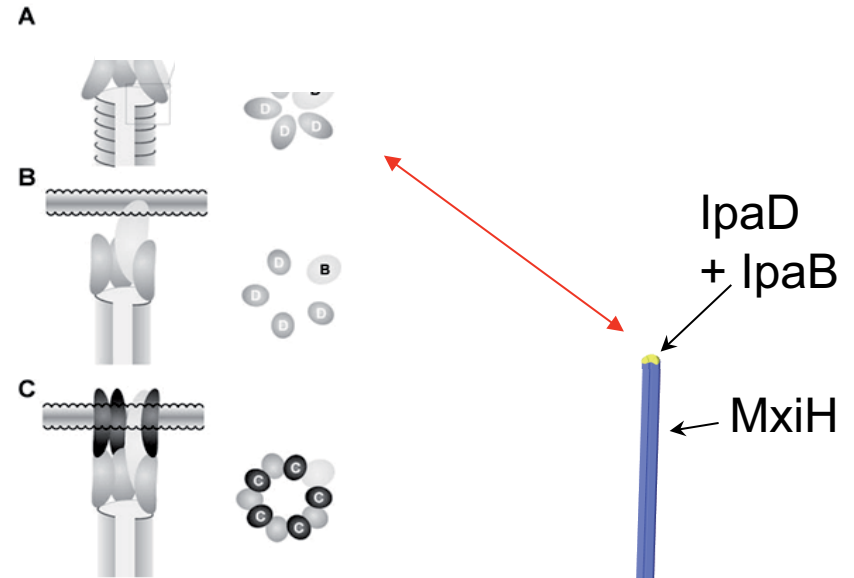


MxiJ
MxiG

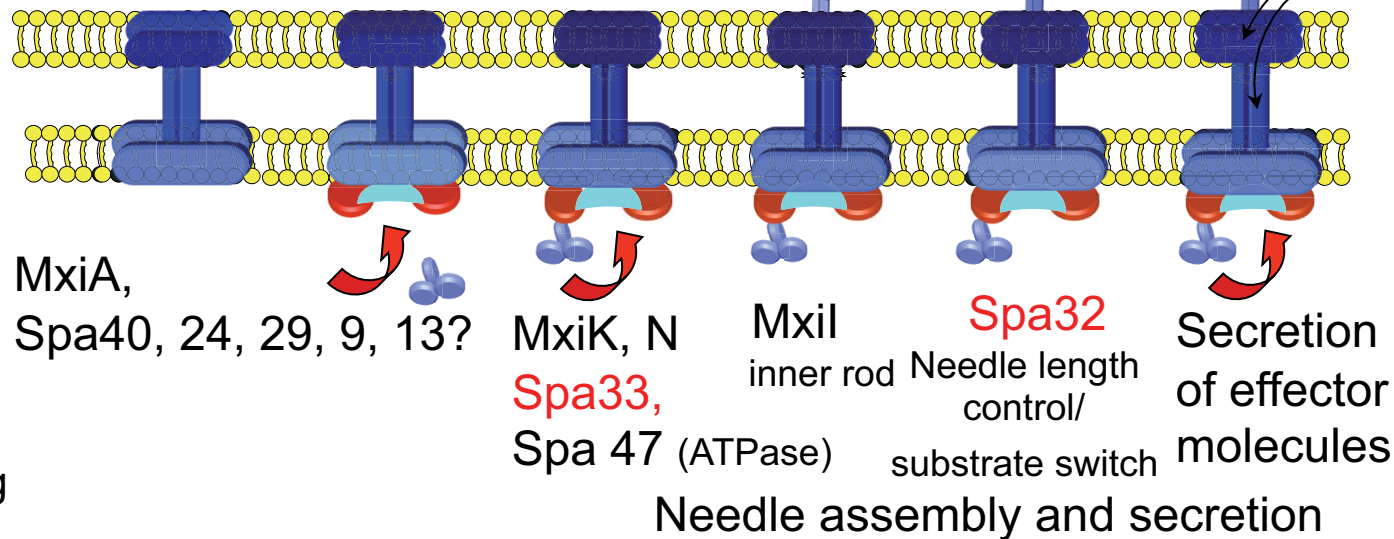
Inner membrane ring



Sani et al., 2006

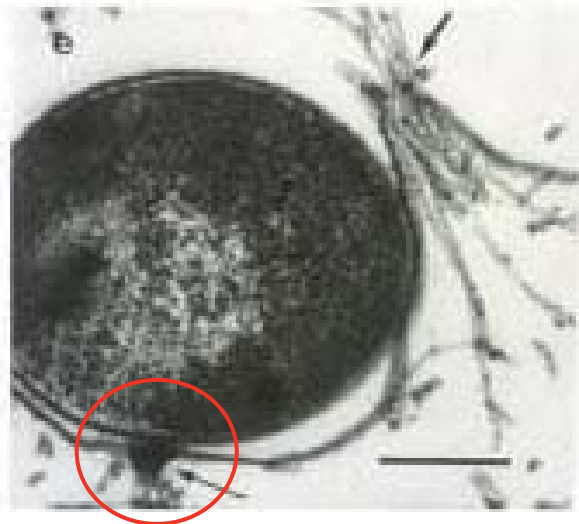
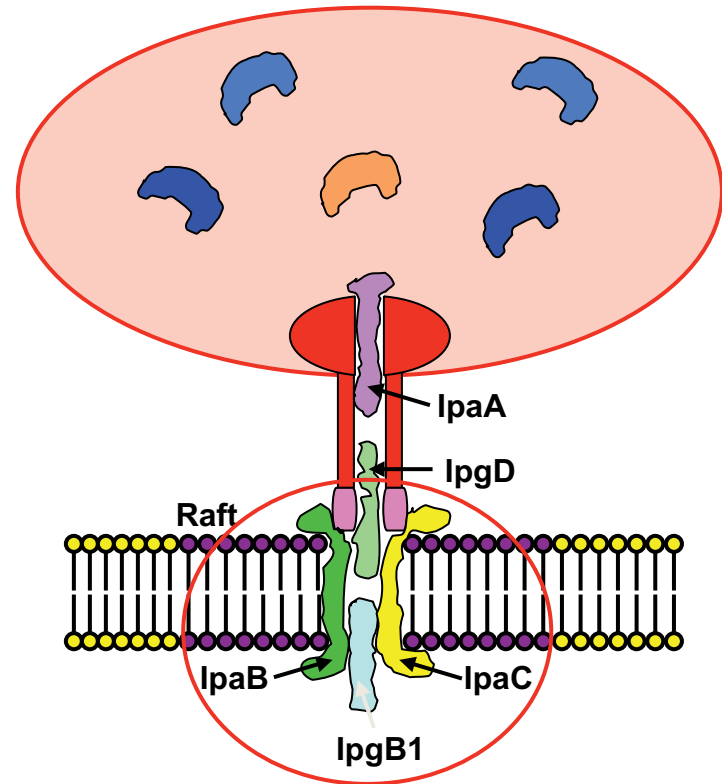
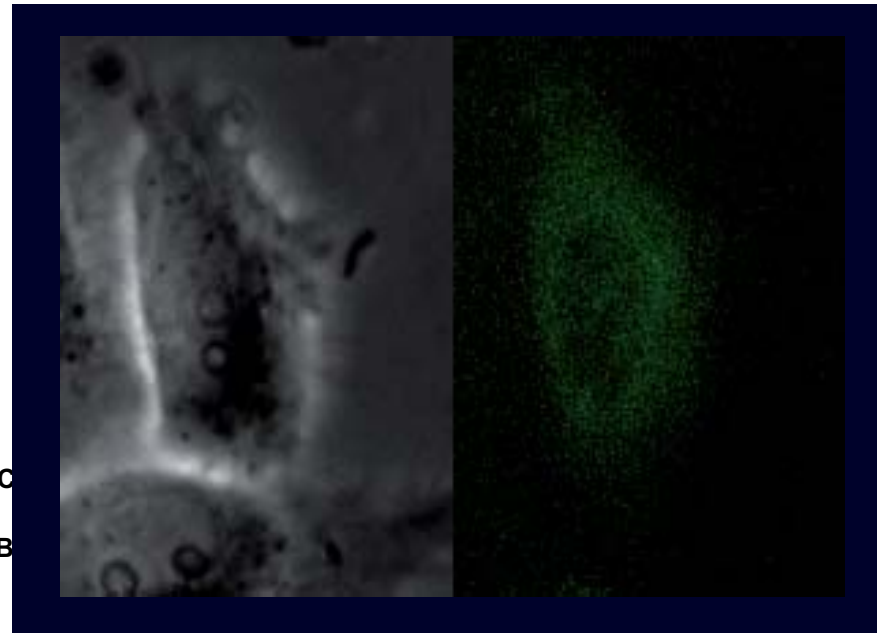
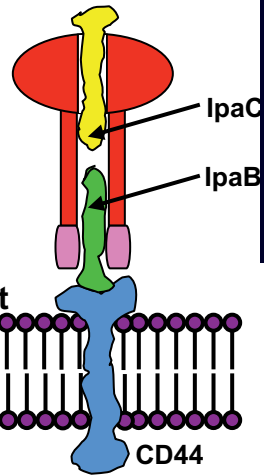
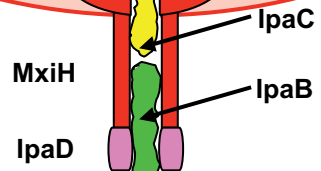
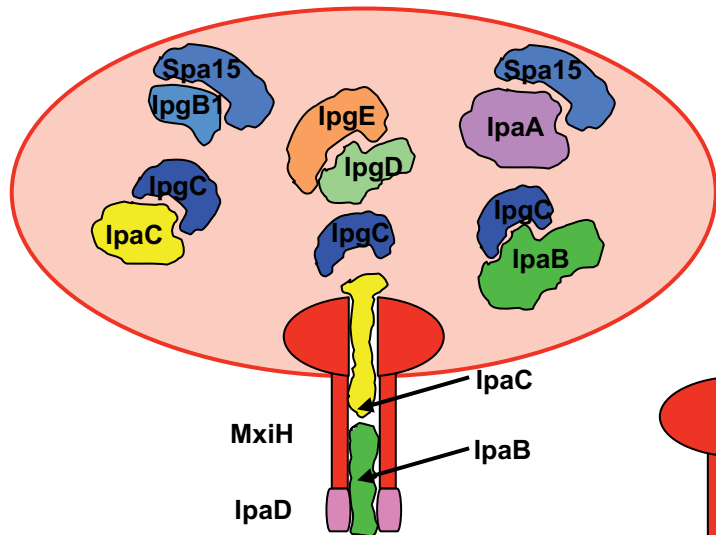


Veenendaal et al., 2007



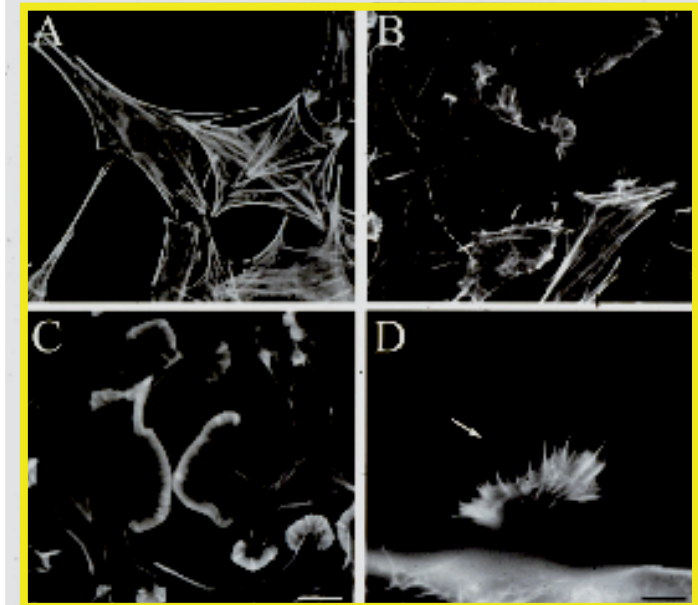
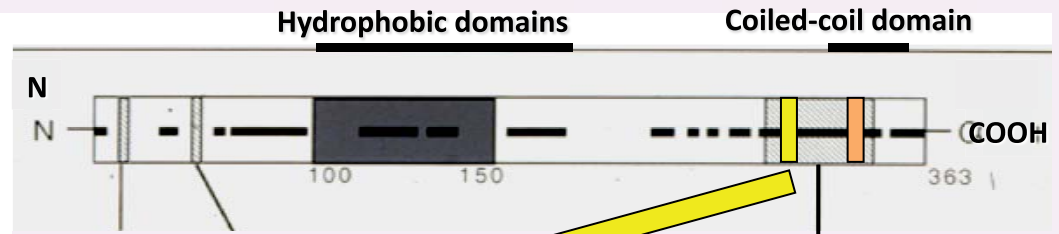
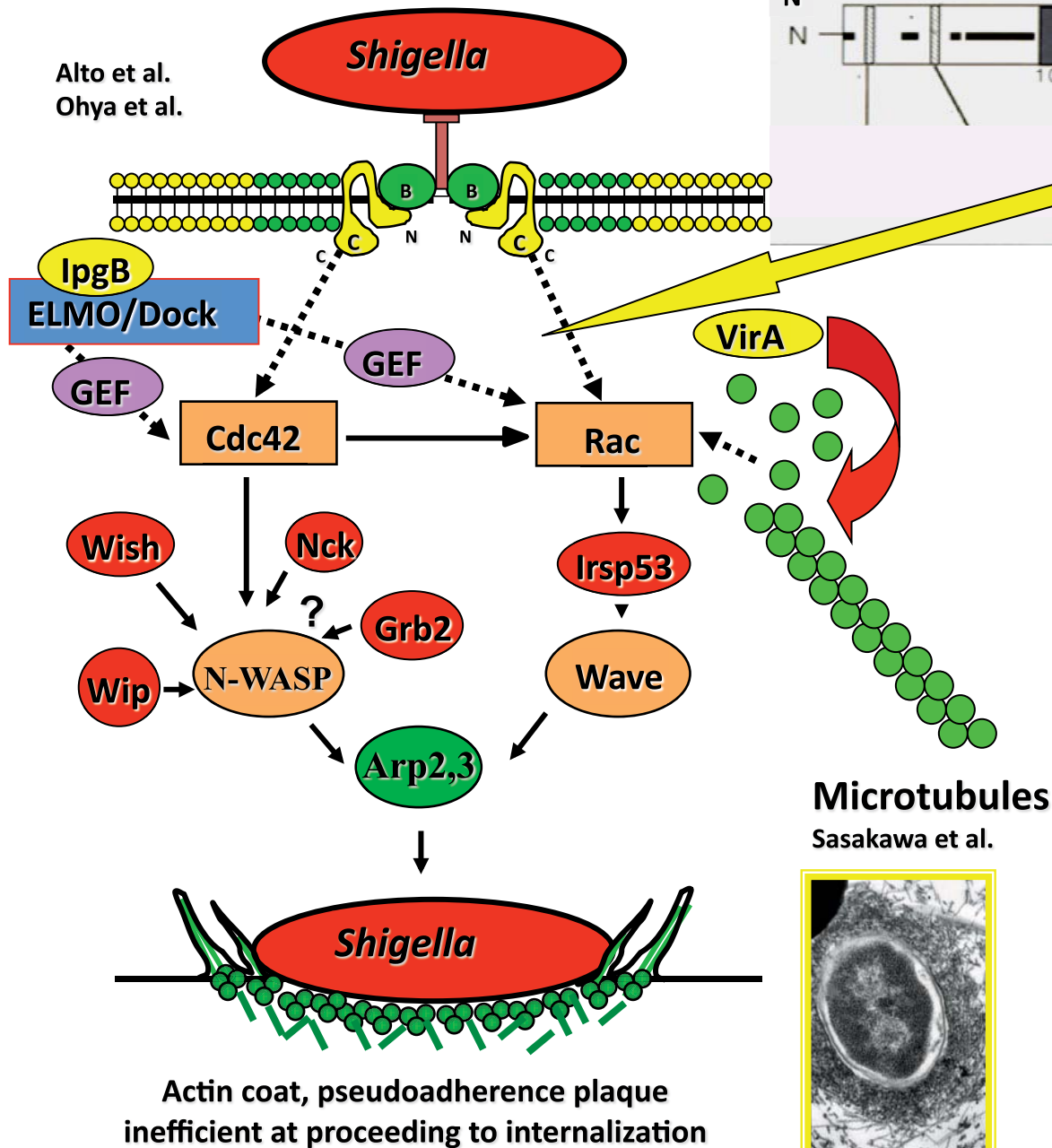
Sec-dependent

Sec-independent / TTSS dependent





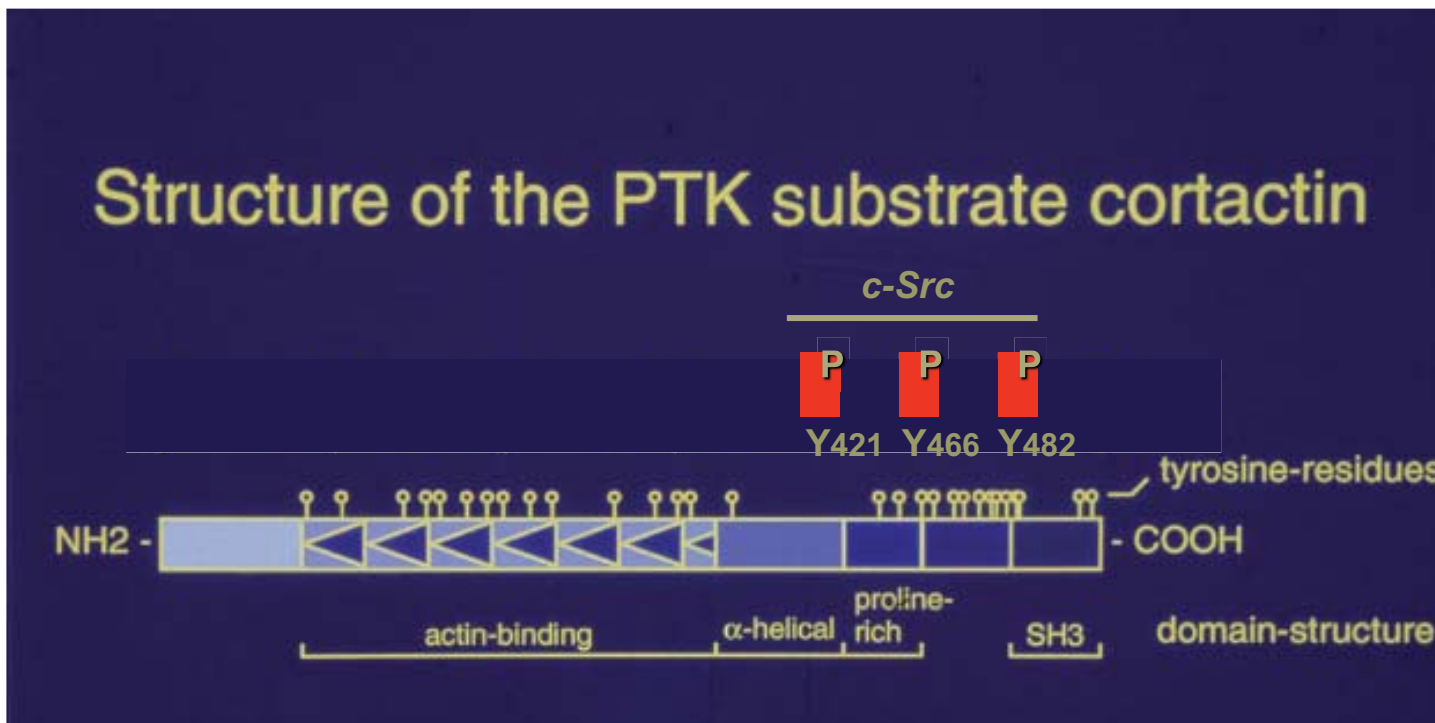
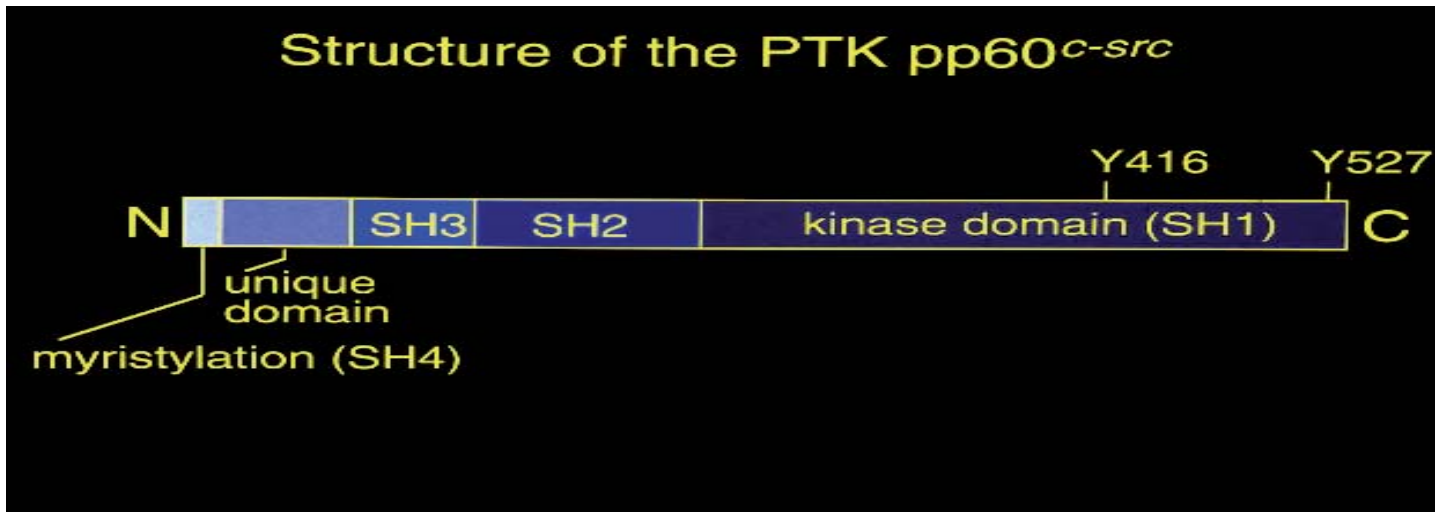
Guy TRAN VAN NHIEU
Collège de France, Paris



**LOADING OF SWISS 3T3 CELLS
WITH IpaC AND anti-IpaC mAbs**

Tran Van Nhieu et al., EMBO J. 1998

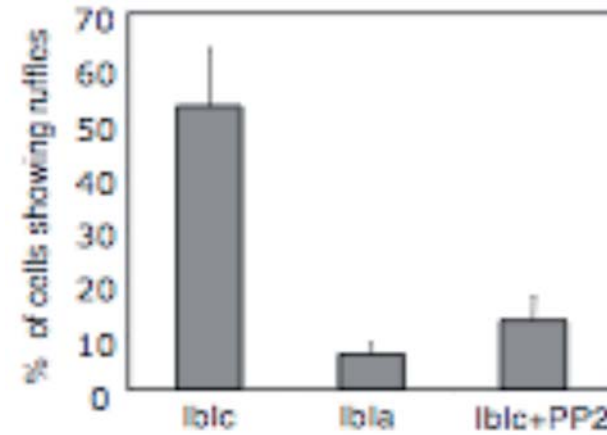
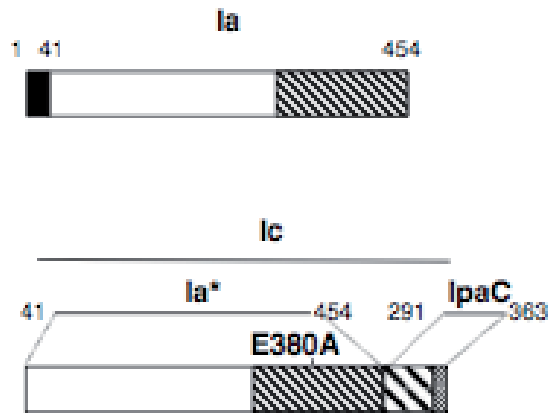
Entrée de *Shigella*, la connexion Src-Cortactine



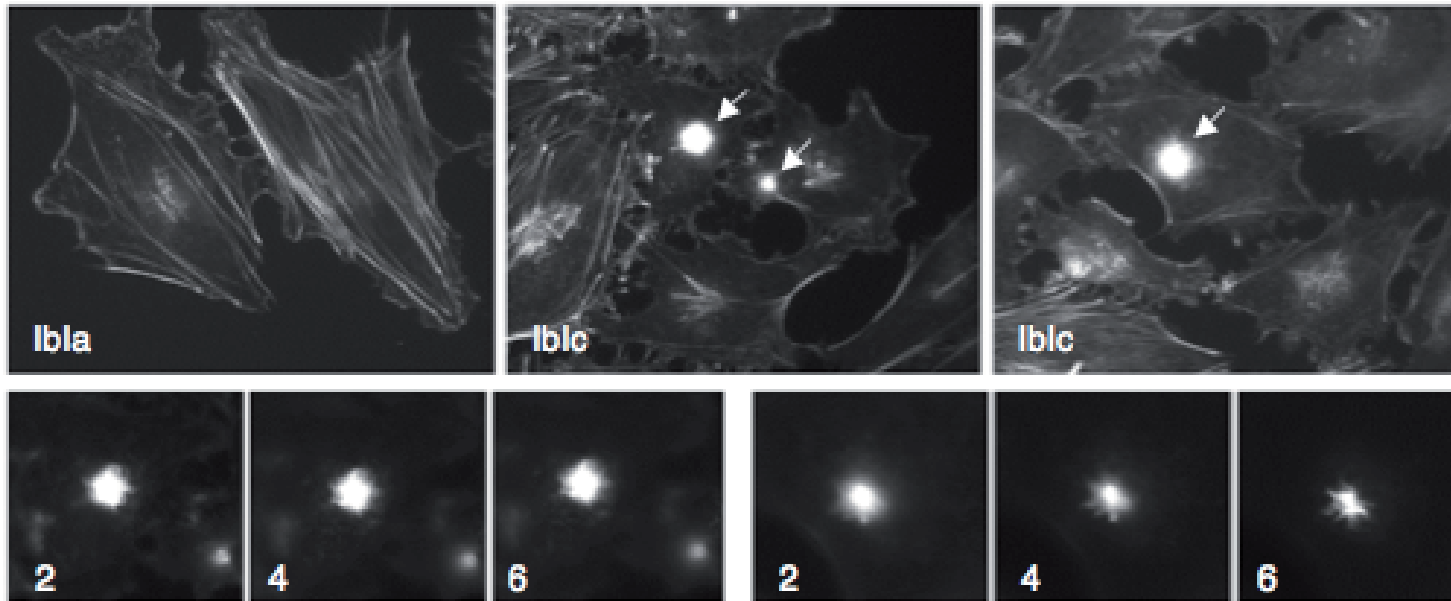
Dehio C et coll. 1995. EMBO J.

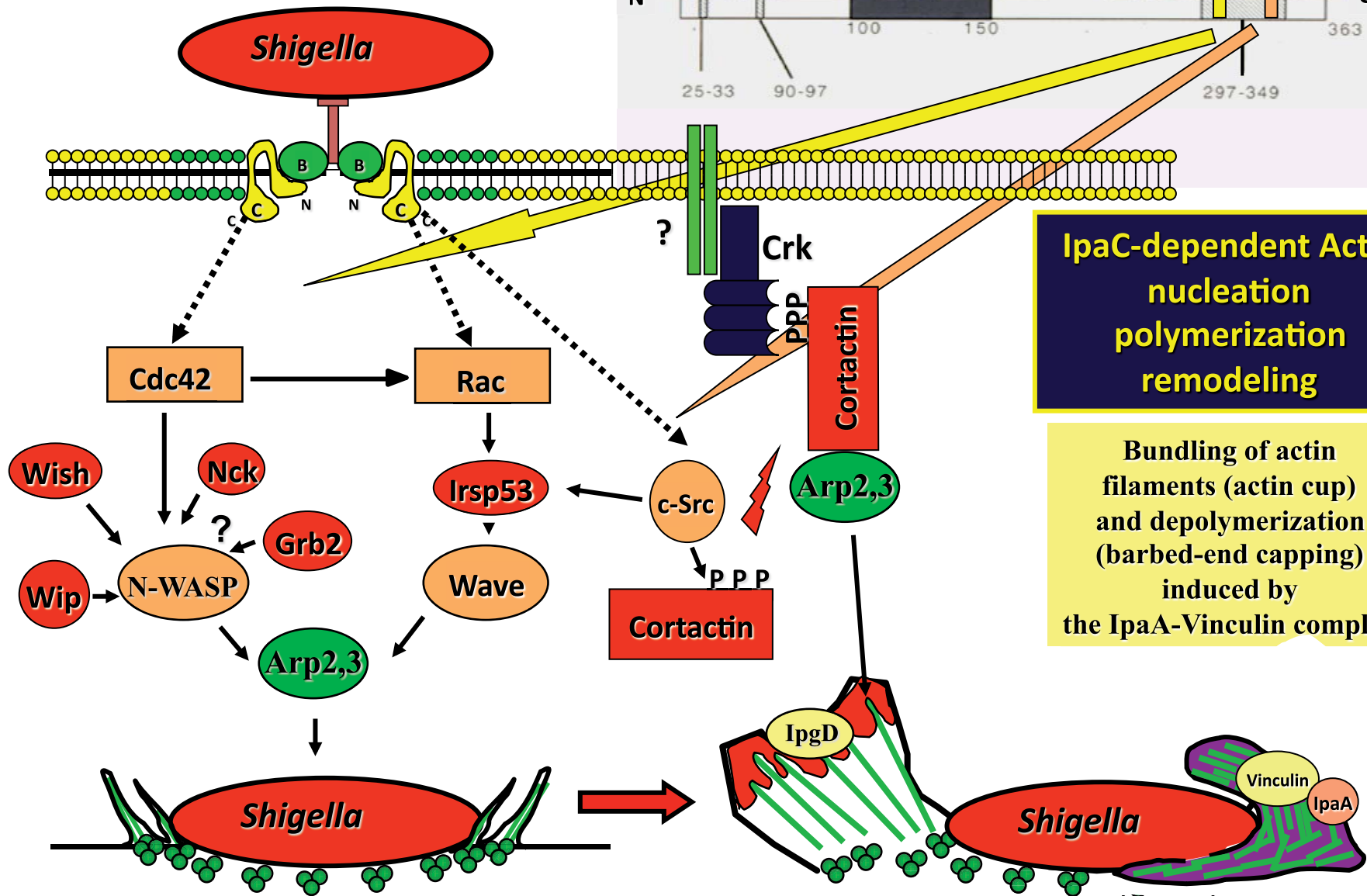
Bougnères L et coll. 2004. J. Cell Biol.

IpaC last 72 aa fused to iota la component (Ic)
induce actin-foci-like structures



Src inhibitor (10 μ M)





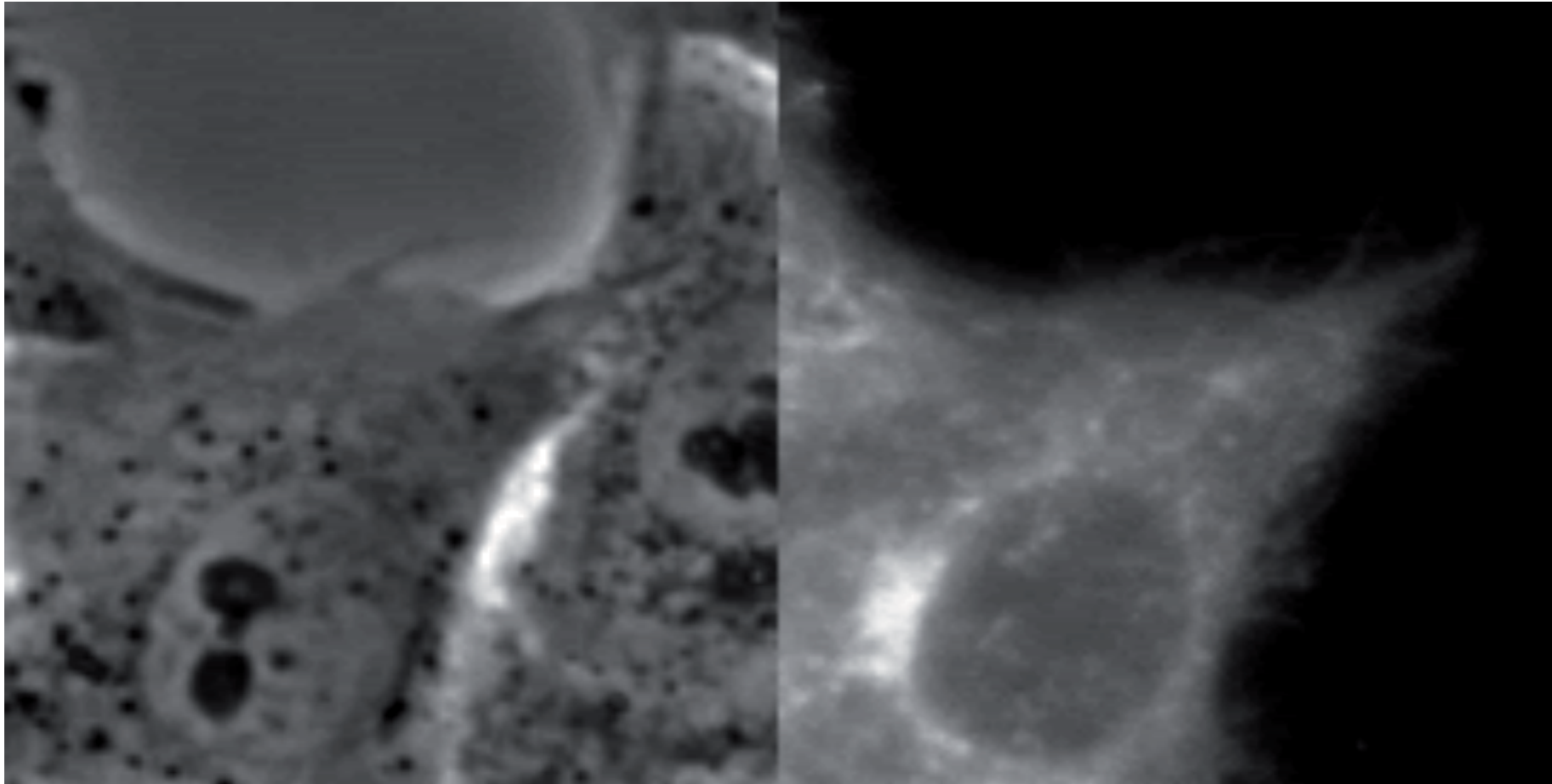
IpaC-dependent Actin nucleation polymerization remodeling

Bundling of actin filaments (actin cup) and depolymerization (barbed-end capping) induced by the IpaA-Vinculin complex

IpgD-mediated release of membrane tension force through PI(4,5)P2 phosphatase activity

Tran Van Nhieu et al., 1998, EMBO J.
 Bourdet-Sicard et al., 1999, EMBO J.
 Niebühr et al., 2002, EMBO J.
 Bournères et al., 2004, J. Cell Biol.
 Ramarao et al., 2007, FEBS Letters

Signalisation par Src et amplification de la polymérisation de l'actine



Tran Van Nhieu et al., 1998, EMBO J.
Bourdet-Sicard et al., 1999, EMBO J.
Niebühr et al., 2002, EMBO J.
Bougnères et al., 2004, J.Cell Biol.
Enninga et al., 2005, Nat.Methods
Ramarao et al., 2007, FEBS Letters
Jaumouillé et al., 2008, EMBO J.
Mounier et al., PLoS Pathogens, 2009

Src-GFP

Remerciements

Monique Arpin (Curie)

Patrice Boquet (IP)

Marie-France Carlier (Gif)

Philippe Clerc (IP)

Alan Hall (Sloan-Kettering)

Daniel Louvard (Curie)

Joëlle Mounier (IP)

Dominique Pantaloni (Gif)

Sylvie Robine (Curie)

Guy Tran Van Nhieu (IP & Collège de France)

... et de nombreux étudiants
et chercheurs post-doctoraux