

CHAPITRE VII: TRANSPORT MEMBRANAIRE ET COMMUNICATION

4. Transports particuliers

4.1. Capture de fer

Presque tous les microorganismes ont besoin de fer pour leurs cytochromes et de nombreuses enzymes. La capture du fer est difficile car les ions ferriques (Fe^{3+}) et leurs dérivés sont très insolubles, ce qui laisse peu de fer libre disponible pour le transport. Beaucoup de bactéries et de mycètes ont surmonté cette difficulté en sécrétant des sidérophores (en grec : transporteur de fer). Les **sidérophores** sont des molécules de faible poids moléculaire qui complexent les ions ferriques et les fournissent à la cellule. Ces molécules de transport du fer sont normalement des hydroxamates ou des phénolates-catécholates. Le ferrichrome est un hydroxamate produit par de nombreux mycètes, l'entérobactine est un catécholate sécrété par *E.coli* (Fig. 06). Il semble que trois groupes de sidérophores interagissent avec les orbitales du fer pour former un complexe octaédrique à six liaisons de coordination (Fig. 06).

Les microorganismes sécrètent des sidérophores quand il y a peu de fer disponible dans le milieu. Lorsque le complexe sidérophore-fer a atteint la surface de la cellule, il se lie à une protéine réceptrice du sidérophore. Le fer est ensuite libéré pour entrer directement dans la cellule par un transporteur ABC. Chez *E.coli*, le récepteur est localisé dans la membrane externe de l'enveloppe cellulaire ; lorsque le fer atteint l'espace périplasmique, il traverse la membrane plasmique avec l'aide du transporteur. Une fois entré dans la cellule, il est réduit en ion ferreux (Fe^{2+}). Le fer est tellement crucial que les microorganismes utilisent souvent plus d'une voie pour l'absorber en quantité suffisante.

4.2. Translocation et sécrétion des protéines chez les bactéries

Pour assurer leur survie, les cellules doivent tirer de l'énergie de leur environnement et la convertir en une forme utilisable (ex. ATP). Elles obtiennent également leurs nutriments de leur environnement, évitent les produits chimiques dangereux, construisent leurs structures externes telles que fimbriae et flagelles, et si elles sont pathogéniques, peuvent libérer des toxines. Tous ces

processus nécessitent que certaines des protéines synthétisées dans le cytoplasme passent à travers la membrane, l'espace périplasmique ou le milieu extérieur.

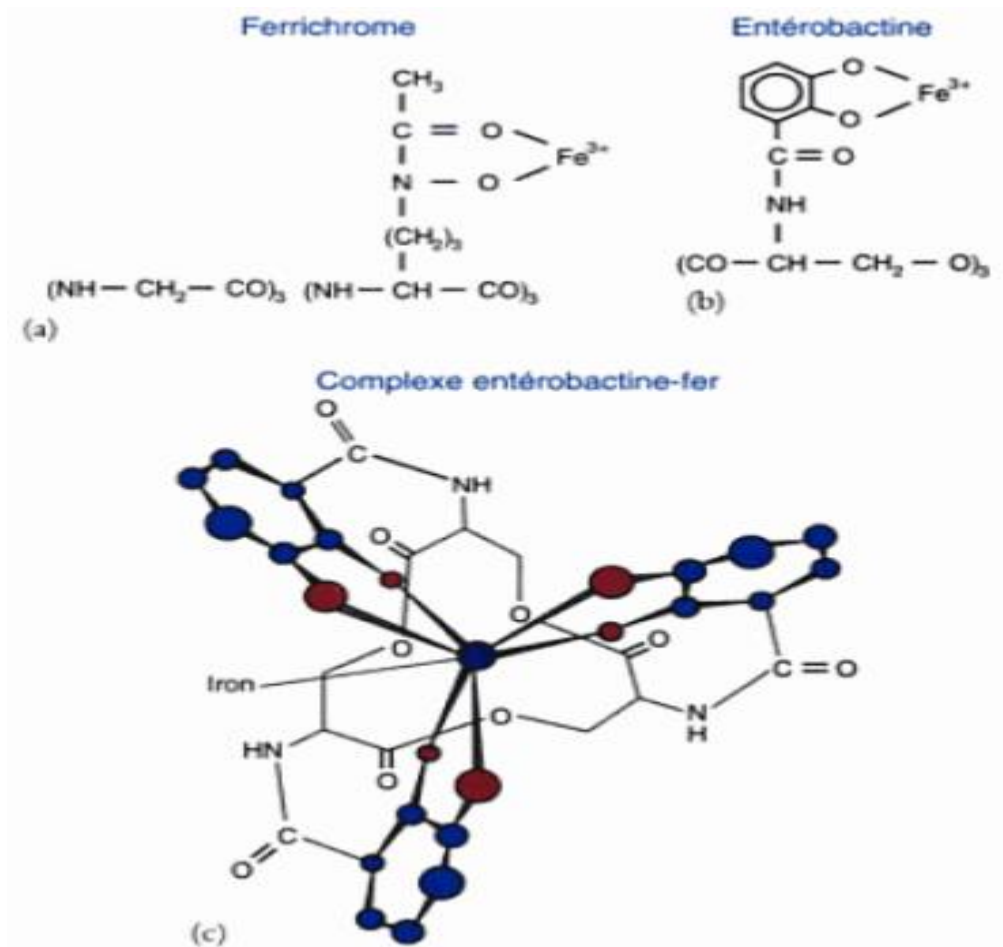


Figure 06: Complexe sidérophore-ion ferrique.

[(a) Le ferrichrome est un hydroxamate cyclique [-CO-N(O⁻)-] synthétisé par de nombreux mycètes. (b) *E.coli* produit un catécholate cyclique, l'entérobactine. (c) le fer ferrique se lie probablement à 3 sidérophores pour former un complexe hexaédrique à six liaisons de coordination, comme le montre cette illustration du complexe entérobactine-fer].

On estime qu'environ un tiers des protéines synthétisées par les cellules quittent le cytoplasme. Il n'est donc pas surprenant que plus de 15 systèmes différents se soient développés pour transporter les protéines en dehors du cytoplasme. Certains de ces systèmes sont observés dans tous les domaines du monde vivant. D'autres sont spécifiques des cellules bactériennes, et d'autres encore ne s'observent que dans les bactéries à Gram-négatif ou Gram-positif. Lorsque les protéines migrent du cytoplasme à la membrane ou à l'espace périplasmique, le mouvement est appelé **translocation**. La **sécrétion** des protéines concerne le mouvement des protéines du

cytoplasme vers l'environnement extérieur. Beaucoup de voies de sécrétion sont désignées par des numéros (ex. système de sécrétion de type I, de type II, etc.). Tous les mécanismes de translocation et de sécrétion repris ici requièrent une dépense d'énergie à une étape ou l'autre du processus. Cette énergie est habituellement fournie par l'hydrolyse de molécules à haute énergie comme l'ATP ou le GTP. Toutefois, la force proton motrice intervient parfois aussi.

Les variations de la structure de l'enveloppe de la cellule microbienne posent différents problèmes relatifs à la sécrétion des protéines. Chez la plupart des bactéries à Gram-négatif, pour qu'elles soient sécrétées, les protéines doivent être transportées à travers la membrane plasmique. Une fois cette barrière franchie, la protéine, soit passe à travers le peptidoglycane relativement poreux vers l'espace extracellulaire, soit est attachée ou enchâssée dans le peptidoglycane.

4.2.1. Certains systèmes de translocation et de sécrétion sont communs aux bactéries à Gram-positif et à Gram-négatif

Deux systèmes de **translocation** (le *système Sec* et le *système Tat*) et deux systèmes de **sécrétion** (*Type I* et *Type IV*) sont observés aussi bien chez les bactéries à Gram-positif qu'à Gram-négatif.

Le *système Sec*, parfois appelé voie de sécrétion général, est hautement conservé, ayant été identifié dans les trois domaines de la vie (Fig. 07). Il transporte les protéines non repliées à travers la membrane plasmique ou les intègre dans la membrane elle-même. Il réalise cela soit au niveau post-translationnel soit au niveau co-translationnel. En général, la translocation post-translationnel fait passer la protéine à travers la membrane, alors que la translocation co-translationnelle insère les protéines dans la membrane plasmique.

Dans la translocation post-translationnelle, la protéine est synthétisée et libérée par les protéines chaperons. Une séquence d'acides aminés à l'extrémité amino de la préprotéine, appelée **peptide signale**, est reconnue et liée par la protéine Sec A. Sec A délivre la préprotéine au système Sec. Certaines protéines Sec (SecY, SecE et SecG) forment un canal dans la membrane par lequel la pré-protéine peut passer. On pense que SecA insère le petit signal dans le canal YEG puis agit comme un moteur, en utilisant l'énergie libérée par l'hydrolyse d'ATP afin de transporter la préprotéine. Deux autres protéines (SecDS) utilisent la force proton motrice pour activer la translocation à travers la membrane plasmique. Lorsque la préprotéine émerge de la membrane plasmique, une enzyme appelée **peptidase signal** élimine le peptide signal. La protéine se replie

alors pour atteindre sa forme propre. Chez les bactéries à Gram-négatif, les protéines délivrées dans le périplasma par le système Sec peuvent être transportées à travers la membrane externe par les systèmes de sécrétion de type II, IV, ou V.

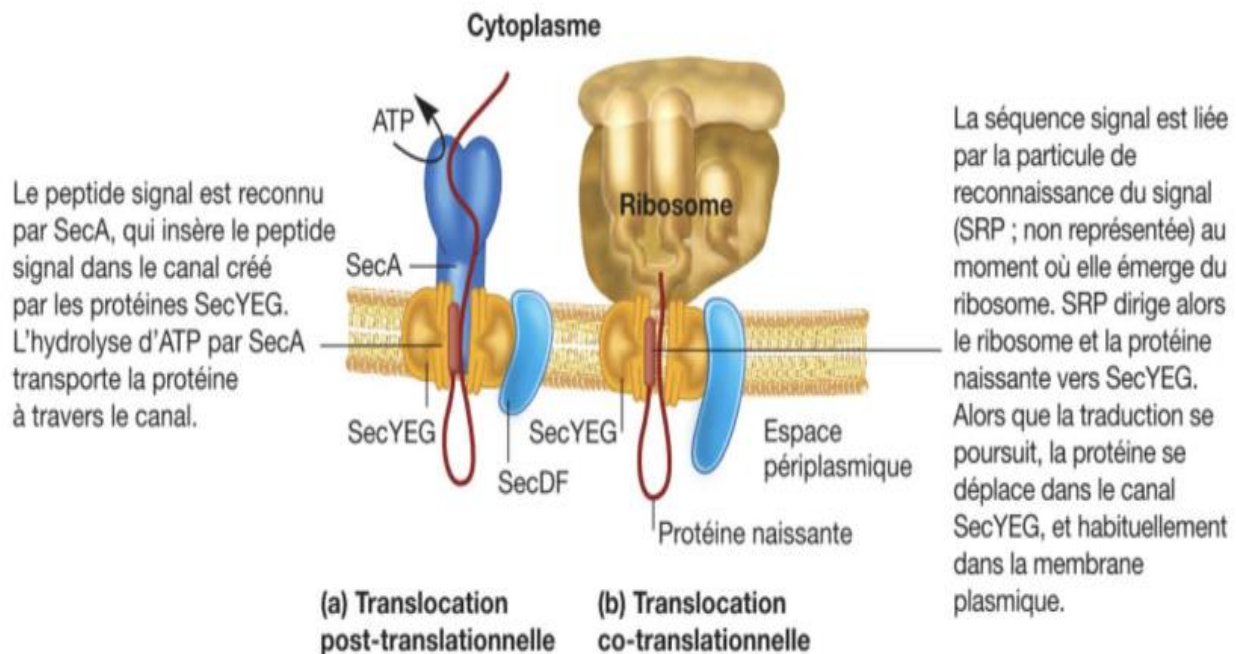


Figure 07: Translocation post-translationnelle et co-translationnelle par le système Sec fait passer les protéines non-repliées à travers ou dans la membrane plasmique.

[(a) la translocation post-translationnelle utilise des chaperons pour conserver la protéine non-repliée jusqu'à ce qu'elle soit reconnue par SecA. On voit ici SecA sous la forme dimère. On a aussi des preuves que le monomère de SecA suffit pour la translocation. (b) dans la translocation co-translationnelle, la protéine n'a pas eu la chance de se replier avant qu'elle ne soit liée par SRP puis délivrée, ainsi que le ribosome, vers SecYEG].

Le mouvement co-translationnel des protéines par le système Sec est contrôlé par un complexe d'ARN et de protéine appelé **particule de reconnaissance du signal (SRP)**. On pense que SRP se lie à une séquence signal (différente de celle du peptide signal) dans la protéine lorsqu'elle quitte le ribosome et dirige la protéine en même temps que le ribosome de traduction vers SecYEG. Alors que la traduction continue, la protéine est enfilée dans le canal SecYEG et insérée dans la membrane plasmique, souvent avec l'aide d'une protéine appelée YidC.

Le **système Tat** (Fig. 08) se distingue du système Sec par la nature de la protéine transportée. Le système Sec transfère des protéines non repliées ; le système Tat transfère des protéines repliées. De plus, le système Tat ne prend en charge que des protéines qui présentent deux résidus d'arginine (résidu « jumeaux ») dans leur séquence signal – en fait **Tat** signifie « **Twin Arginine Translocase** ».

Chez les bactéries Gram-négatif, les protéines transférées par le système Tat sont délivrées à un système de sécrétion de type II ou de Type V pour leur transport à travers la membrane externe.

Les systèmes de sécrétion de type I se retrouvent aussi bien chez les bactéries Gram-positif que Gram-négatif (Fig. 08). Les systèmes de type I font partie de la superfamille d'une protéine définie par les transporteurs ABC. Chez les bactéries Gram-négatif, les systèmes de sécrétion de type I (TISS) comporte trois constituants : le transporteur localisé dans la membrane plasmique ; les protéines de fusion membranaires présentes dans l'espace périplasmique ; et les facteurs membranaires externes, qui forment un canal à travers lequel passe la protéine sécrétée. Les systèmes de sécrétion de type I des Gram-positif ne comportent que le transporteur et les protéines de fusion membranaires. Chez les bactéries Gram-négatif pathogènes, ces systèmes de sécrétion sont impliqués dans la sécrétion de toxines (ex., α -hémolysine), ainsi que d'autres protéines (ex., des protéases).

Les systèmes de sécrétion de type IV sont uniques en leur genres en ce sens qu'ils peuvent transférer l'ADN d'une bactérie donneuse vers une réceptrice dans un processus appelé conjugaison bactérienne. Ces systèmes s'observent dans les bactéries Gram-positif et Gram-négatif : toutefois, chez les Gram-positif, ils ne fonctionnent que pour le transfert de l'ADN. Les systèmes de type IV des bactéries Gram-négatif sont les mieux étudiés.

4.2.2. La présence d'une membrane externe chez les bactéries Gram-négatif implique des systèmes de sécrétion distincts

Actuellement six systèmes de sécrétion de protéines (les **types I à VI**) ont été identifiés chez les bactéries Gram-négatif (Fig. 08; le type VI n'est pas montré). Certains de ces systèmes présents dans les bactéries Gram-négatif et Gram-positif ont déjà été évoqués ci-dessus (les systèmes de sécrétion I et IV). Tous les autres ne se trouvent que chez les Gram-négatif. La plupart sont utilisés pour sécréter les facteurs de virulence produits par les pathogènes de plantes ou d'animaux. Les bactéries Gram-négatif utilisent les systèmes de type II et V pour faire traverser la membrane externe aux protéines qui ont déjà traversé la membrane cytoplasmique grâce aux système Sec ou Tat. Les systèmes de type I, III et VI ne transportent pas de protéines qui ont d'abord traversé la membrane cytoplasmique grâce au système Sec : on les dit Sec-indépendants. Le type IV de sécrétion est parfois lié au système Sec mais fonctionne habituellement de façon autonome.

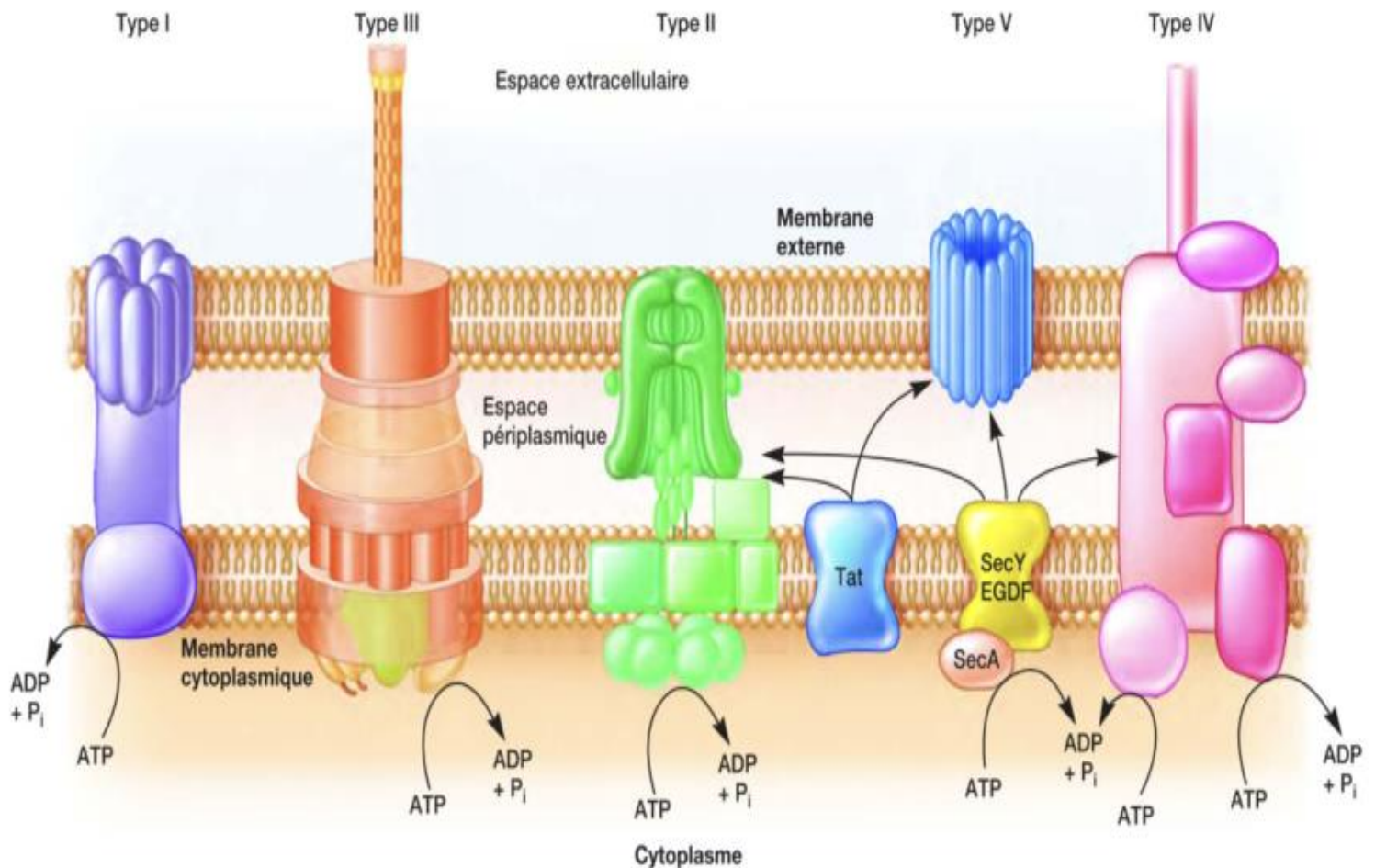


Figure 08: Systèmes de sécrétion de protéines chez les bactéries Gram-négatif.

(Les systèmes de sécrétion de type I à V des bactéries Gram-négatif sont illustrés. Les systèmes Sec et Tat délivrent les protéines du cytoplasme vers le périplasm, et sont aussi observés chez les bactéries Gram-positif. Les systèmes de type II, V et parfois IV parachèvent les processus de sécrétion entamés par le système Sec. Les systèmes de sécrétion de type I et III contournent Sec et Tat, et déplacent les protéines directement du cytoplasme à l'espace extracellulaire. Le système de sécrétion IV peut agir seul ou avec le système Sec pour transporter les protéines vers l'espace extracellulaire. On observe aussi les systèmes de type IV chez les bactéries Gram-positif, où ils interviennent uniquement dans le transport de l'ADN. Tous les systèmes de type IV n'ont pas une aiguille comme celui représenté ici).

Les systèmes de type III et VI, et quelques systèmes de type IV, forment une structure en forme d'aiguille qui s'étend au-delà de la membrane externe et peut entrer en contact avec d'autres cellules (Fig. 08).

Le **système de sécrétion de type III (T3SS)** est le mieux étudié parce que des pathogènes l'utilisent pour injecter directement les facteurs de virulence dans les cellules hôtes animales ou végétales. Ces aiguilles, parfois appelées *injectisome*, délivrent toute une variété de protéines, dont des facteurs de virulence tels que les toxines, les inhibiteurs de phagocytose, les simulateurs de

réorganisation du cytosquelette de la cellule hôte, et les promoteurs de l'apoptose (suicide cellulaire programmé de l'hôte). Les protéines sécrétées sont délivrées à l'appareil du type III par les protéines chaperon. T3SS est aussi appelé **contact-dépendant** ; la partie du translocon (complexe de translocation) située à l'extrémité de l'injectisome ne se forme qu'après contact avec la cible eucaryote du pathogène. Une fois formée, le translocon délivre les facteurs de virulence dans la cellule cible.

Les **systèmes de sécrétion de type V et IV** méritent aussi un commentaire. Certains systèmes de type V emploient des protéines appelées autotransporteurs parce que, après avoir franchi la membrane cytoplasmique grâce au système Sec, elles sont capables d'assurer leur propre passage au travers de la membrane externe. Les autotransporteurs ont trois domaines : l'un d'eux est connu par le système Sec, et un autre forme un pore dans la membrane externe par lequel le troisième domaine (un facteur de virulence) est transporté.

Les **systèmes de type VI (T6SS)** sont intéressants car ils sont semblables aux systèmes de diffusion utilisés par les bactériophages pour libérer leur génome dans le cytoplasme de la bactérie hôte. Les premiers systèmes T6SS découverts étaient ceux utilisés par les bactéries pour délivrer les facteurs de virulence dans le cytoplasme des cellules eucaryotes cibles. Cependant, on pense maintenant que la plupart des T6SS sont utilisés par les bactéries avec lesquelles elles sont en compétition.