

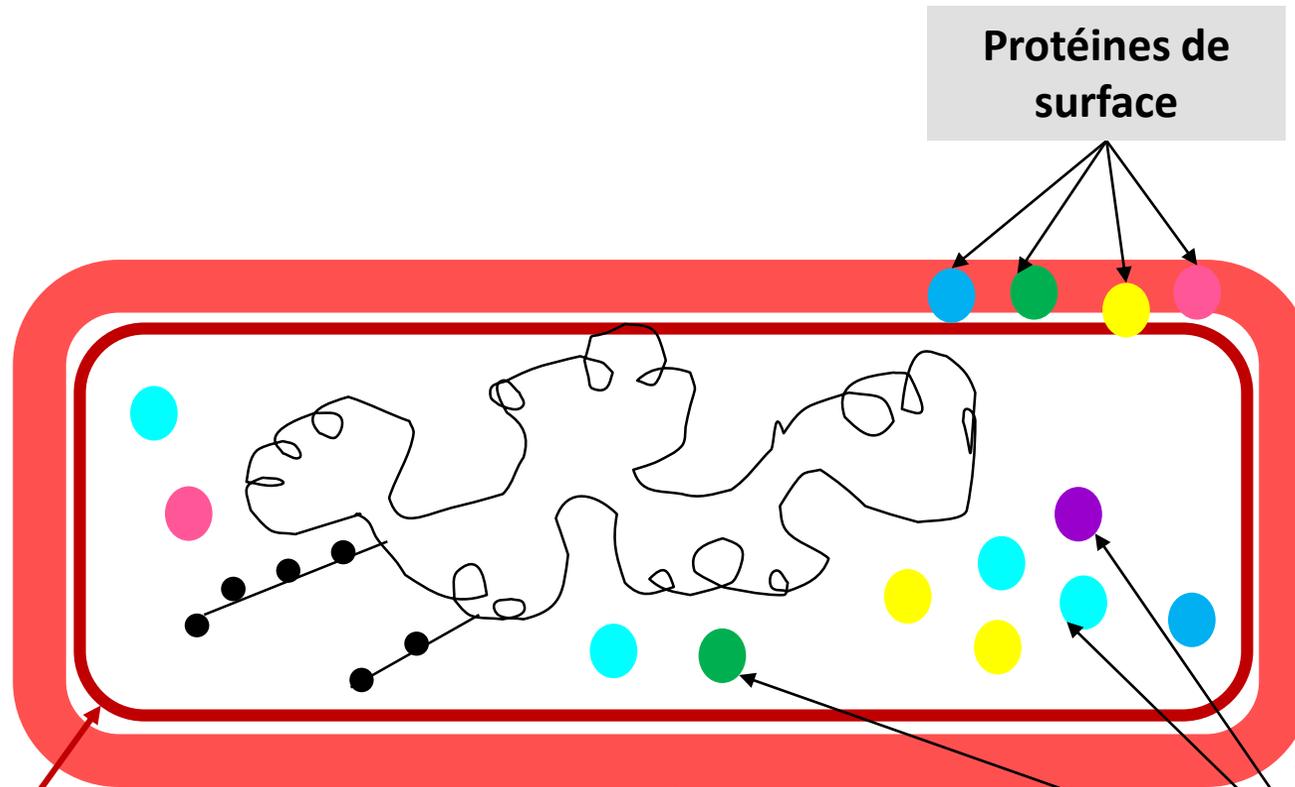


M1 Sciences du médicament et des produits de santé UEM 901

Interactions toxines-récepteurs: exemples de toxines bactériennes

Claire Janoir – 19 novembre 2024

Rappel sur les bactéries



Membrane cytoplasmique :
échanges, métabolisme
énergétique

Paroi : morphologie

**Protéines
intracellulaires**

**Protéines de
surface**

Les toxines : généralités

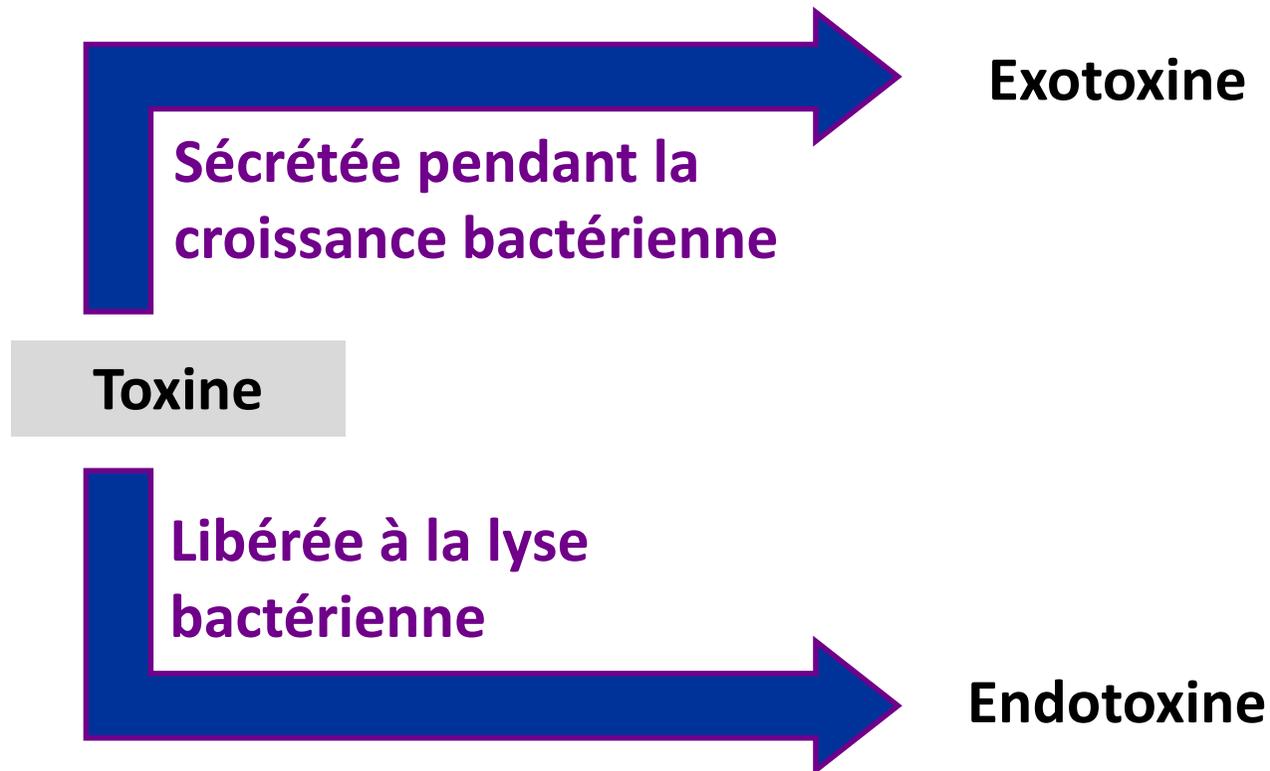
- ❑ Une toxine est un composé (souvent de nature protéique) qui exerce, à des concentrations très faibles, un effet toxique sur une cellule, un tissu ou organe, et qui peut entraîner le décès d'un organisme vivant

- ❑ Produites par un grand nombre d'organismes vivants : eucaryotes, bactéries ; certaines toxines bactériennes sont les poisons les plus puissants au monde

- ❑ Les toxines bactériennes sont très diversifiées en termes de :
 - Taille et structure
 - Mécanisme d'action
 - Cible

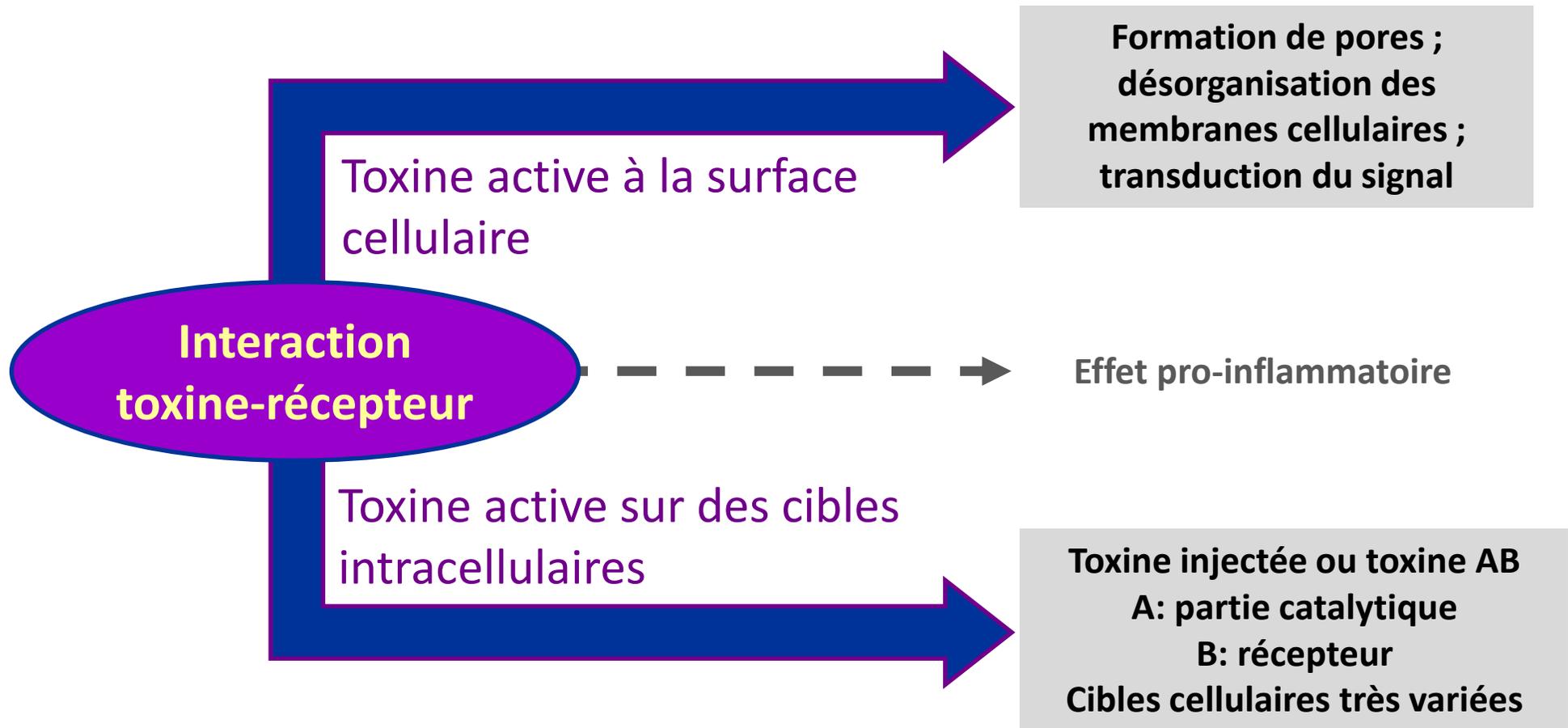
Les toxines bactériennes (1)

- Classification des toxines en fonction de leur **mode de libération**



Les toxines bactériennes (2)

- Classification des toxines en fonction de leur **mode d'action**



Exemple de l'endotoxine des bactéries à Gram négatif

▣ Quelques rappels...

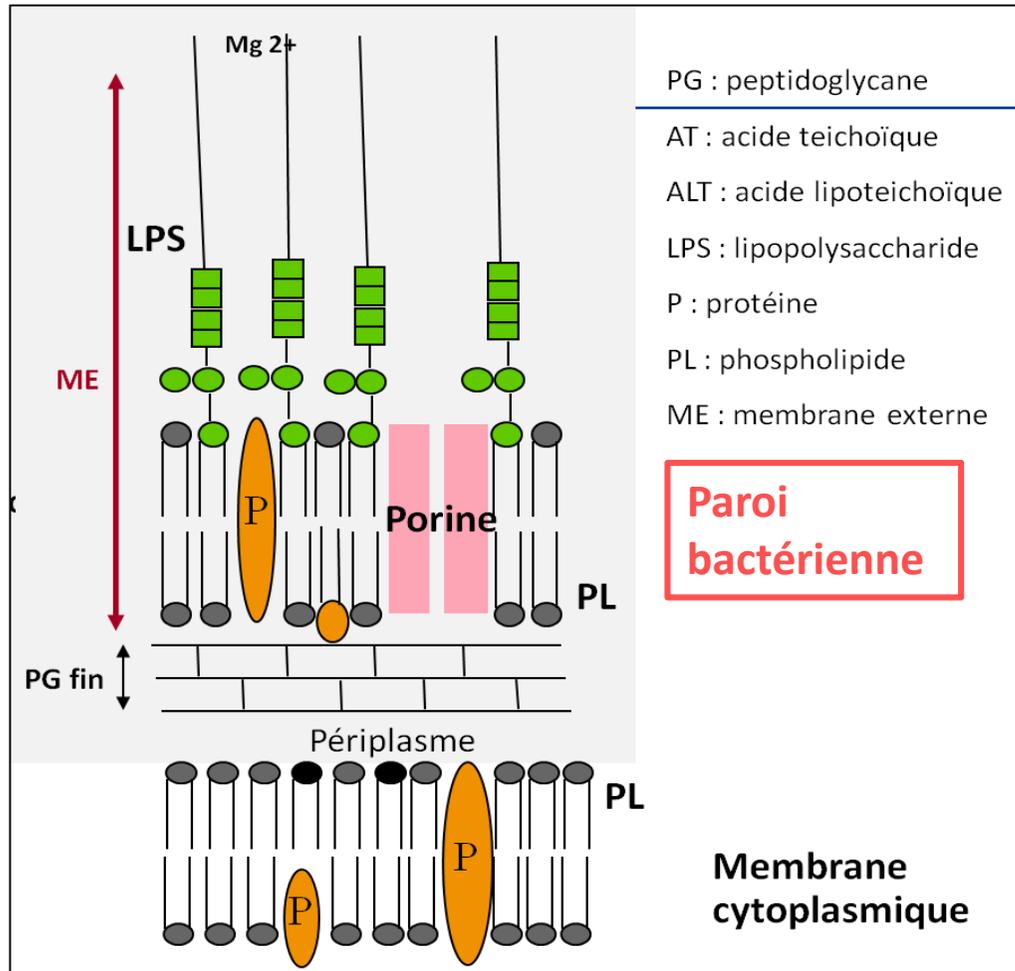
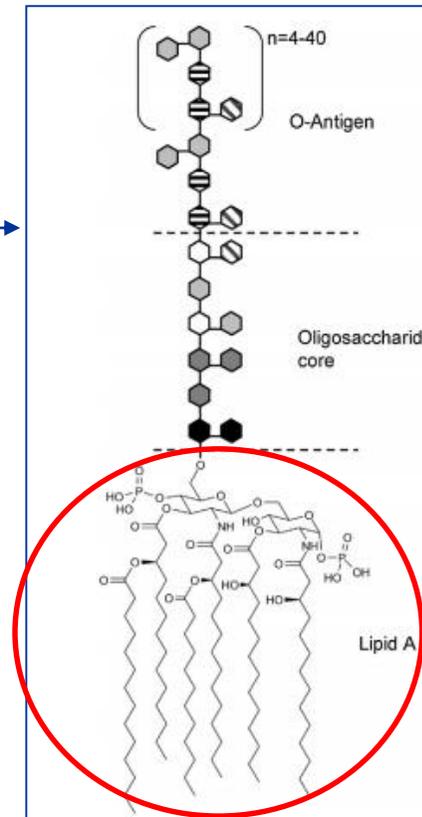


Schéma de l'enveloppe des bactéries à Gram négatif

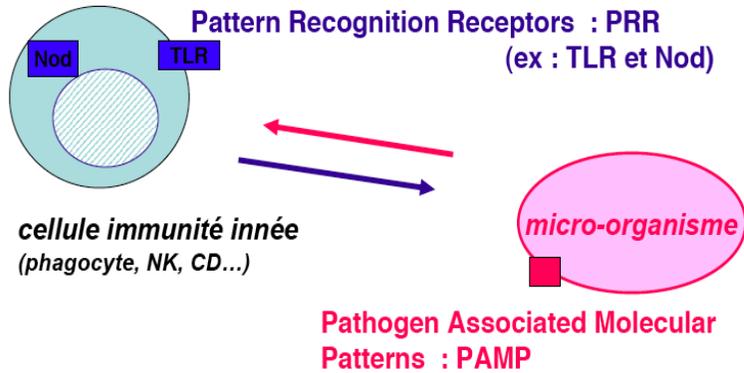


Structure du LPS de *E. coli*

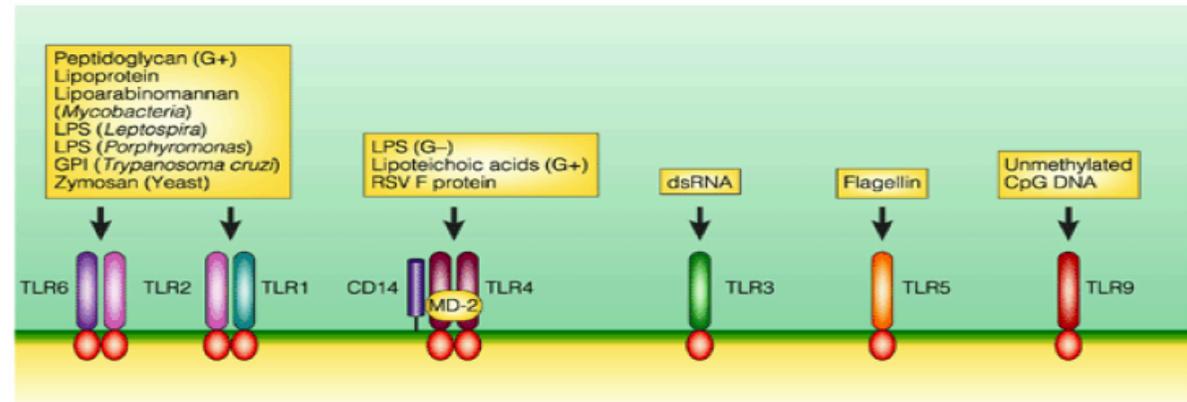
La partie toxique est le lipide A (6 chaînes acyles liées à un dimère de glucosamine phosphorylé)

Le LPS est un PAMP

Reconnaissance de l'agent pathogène par les cellules effectrices de l'immunité innée



Le système des Toll-like récepteurs : TLR



Nature Reviews | Immunology

Le TLR reconnu par le lipide A est le TLR4

- ❑ LPS : molécule amphipatique, forme des agrégats en solution
- ❑ L'activation de la réponse inflammatoire fait intervenir plusieurs composants cellulaires
 - Liaison de la protéine LBP au LPS
 - Un monomère de LPS est transféré à une molécule CD14, qui le transfère ensuite à la protéine MD-2 (sous forme soluble ou associée à TLR4)
 - La formation du complexe trimérique LPS:MD-2:TLR4 va entraîner une dimérisation des domaines intracellulaires des TLR4, entraînant l'activation des voies de signalisation cellulaire

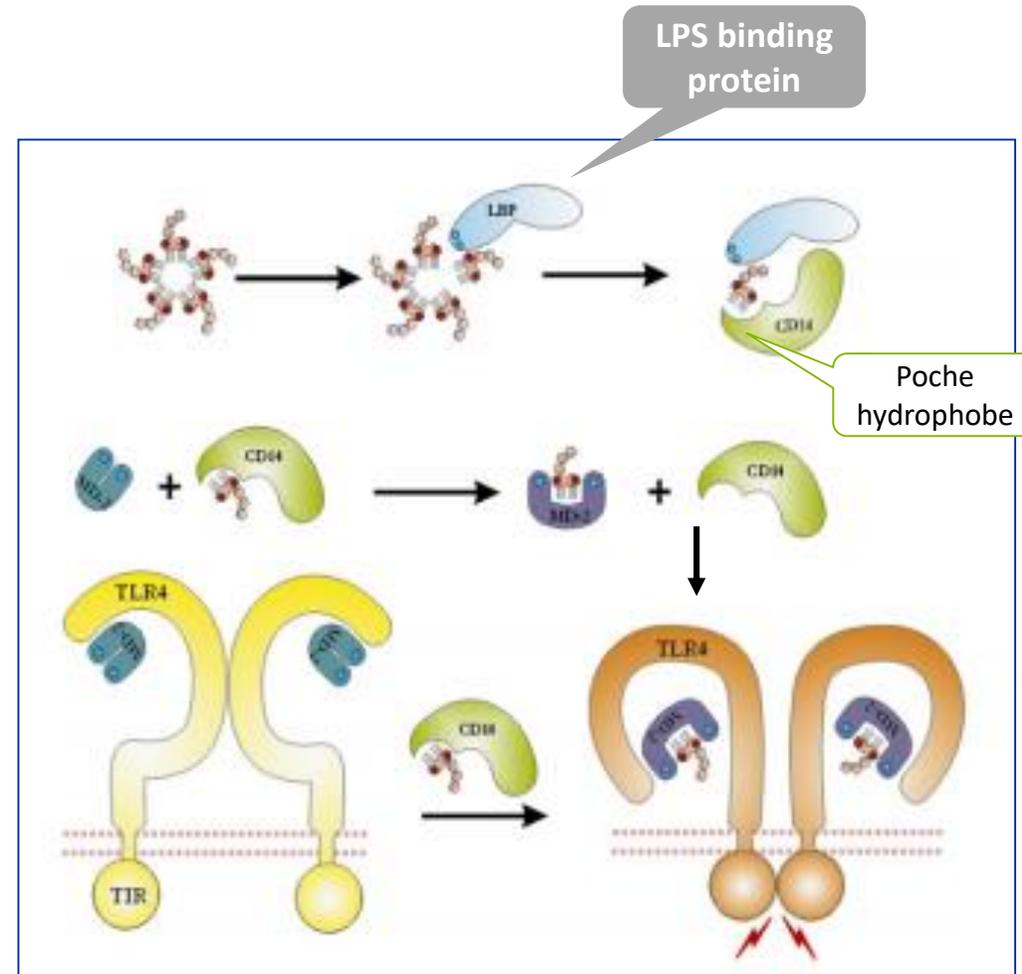
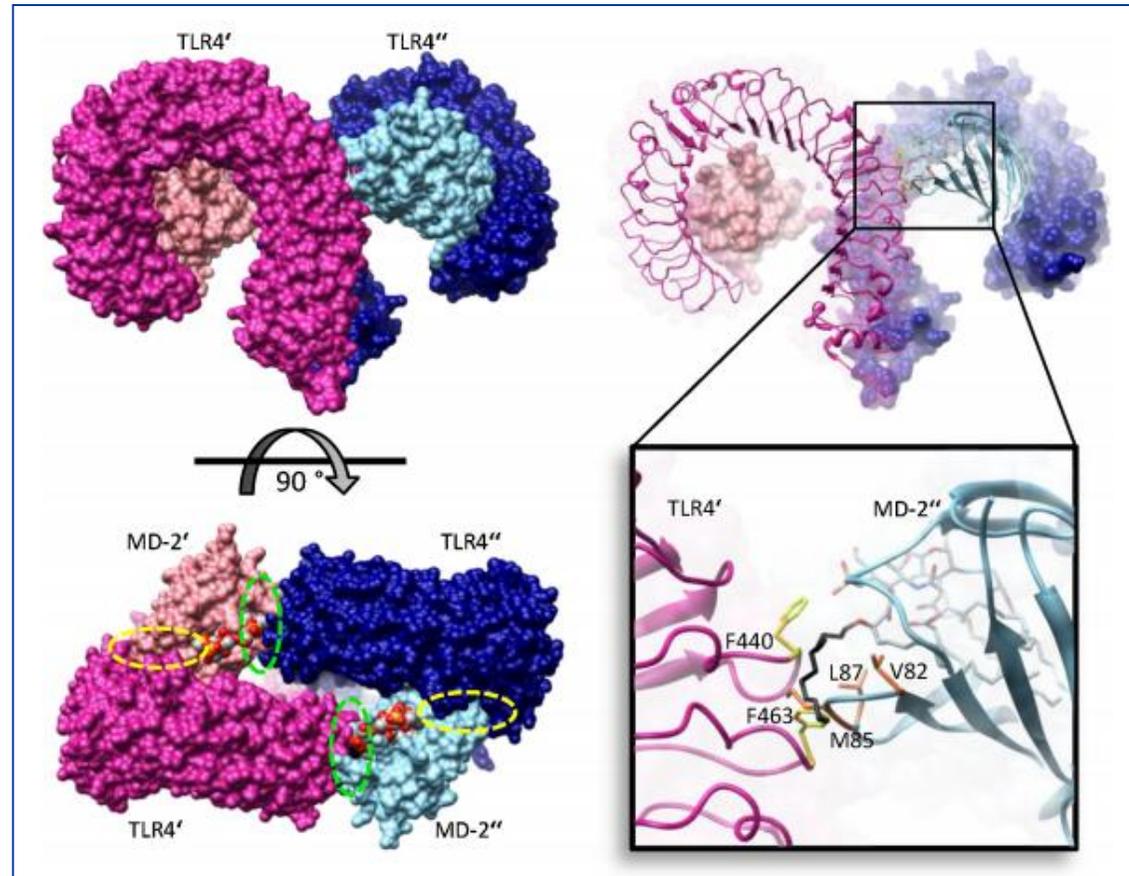


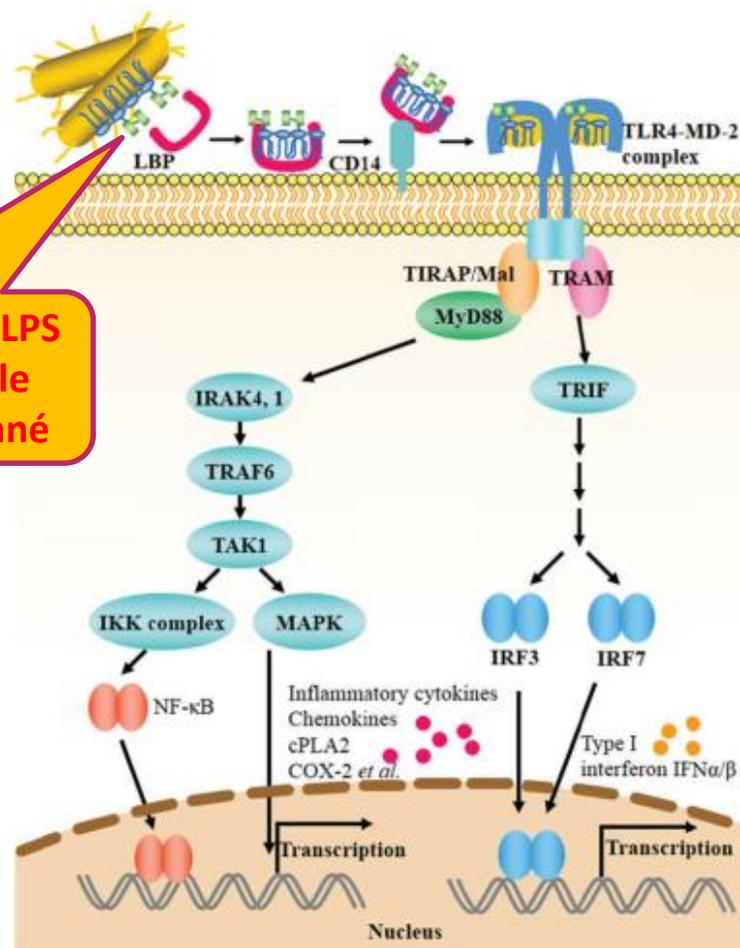
Schéma du processus d'interaction entre le LPS et le récepteur TLR4

□ Mécanisme moléculaire d'interaction

- MD-2 présente une large cavité hydrophobe : site de liaison avec les chaînes acyles
- 5 chaînes acyles se positionnent dans la cavité ; la 6^{ème} dépasse à la surface et peut interagir avec le domaine C-ter extracellulaire hydrophobe du TLR4 d'un autre complexe, ce qui aboutit à la formation du dimère à la surface de la cellule



Mécanisme moléculaire d'interaction entre le LPS et le récepteur TLR4



Quelques picomoles de LPS suffisent pour activer le système immunitaire inné

Développement de la réaction inflammatoire

Conséquences de d'interaction LPS - TLR4

Le LPS induit une forte réponse inflammatoire, à l'origine de la mise en place de mécanismes permettant d'éliminer le pathogène

Exemple des toxines actives à la surface cellulaire

□ Plusieurs mécanismes d'action

- Toxine induisant la transduction d'un signal
Exemple : enterotoxines thermostables (ST) de *Escherichia coli*
- Les enzymes formant des pores ($\approx 30\%$ des toutes les toxines bactériennes)
Exemple : streptolysine O (SLO) de *Streptococcus pyogenes*
- Les enzymes agissant par déstabilisation des membranes

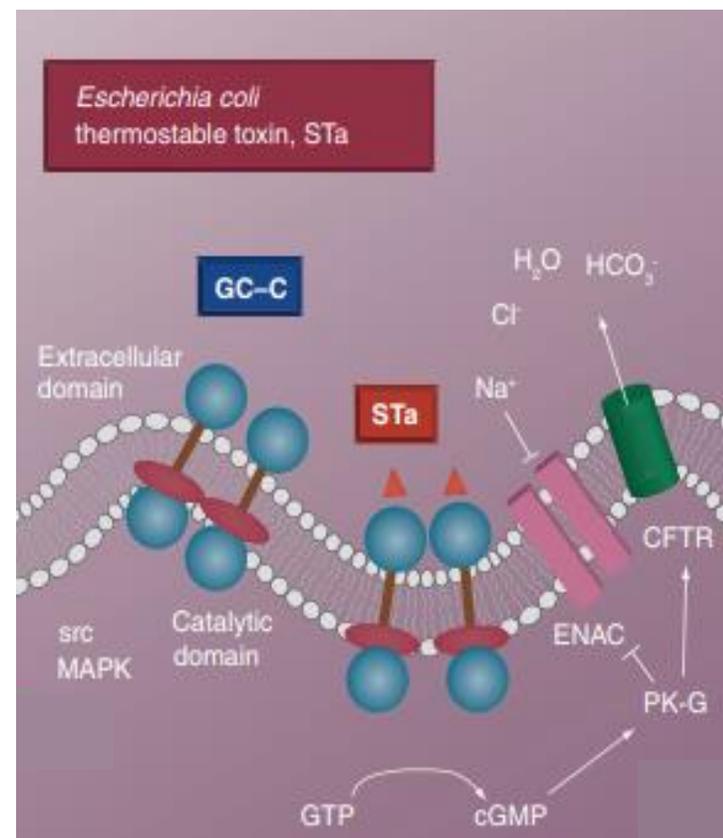
Toxines induisant une transduction d'un signal

□ Toxines thermostables ST de *E. coli*

- Toxines peptidiques de petite taille, riche en pont S-S → structure globulaire
- Récepteur spécifique = partie extracellulaire de la guanylate cyclase qu'elles bloquent sous une forme active (↗ GMPC) → → ouverture des canaux Cl⁻ : perte d'eau et d'électrolytes ;

➡ diarrhée aqueuse

- Homologie de séquence avec une hormone naturelle = guanyline, qui régule l'équilibre eau/électrolytes en interagissant avec le même récepteur



Mécanisme d'action de la toxine ST
(*Escherichia coli*)

Toxines formant des pores (PFTs)

□ Généralités

- Les PFTs sont des protéines hydrophiles ; après liaison à un récepteur spécifique, elles s'oligomérisent et s'insèrent dans la bicouche lipidique en créant un pore.

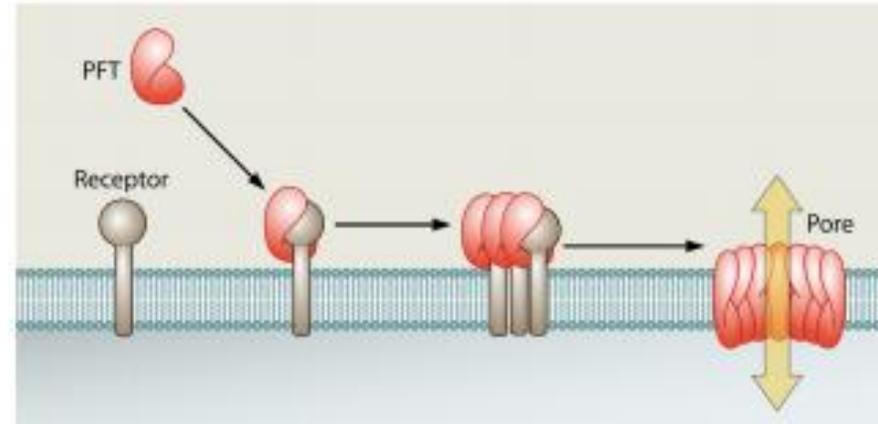


Schéma général du mode d'action des PFTs

- Plusieurs récepteurs des PFTs ont été identifiés : protéines de surface, protéines liées aux glycosylphosphatidylinositol (GPI), lipides (dont le cholestérol).

□ Streptolysine (SLO) de *S. pyogenes*

- CDC (*Cholesterol Dependant Cytotoxin*) qui forme des pores de grande taille (350–500 Å)
- Liaison de très haute affinité avec le cholestérol, dont la fluidité permet la concentration au niveau de microdomaines ou de rafts lipidiques
- La déplétion du cholestérol des membranes les rend insensibles à la SLO

Toxines à cible intracellulaire

❑ Mécanisme d'action global

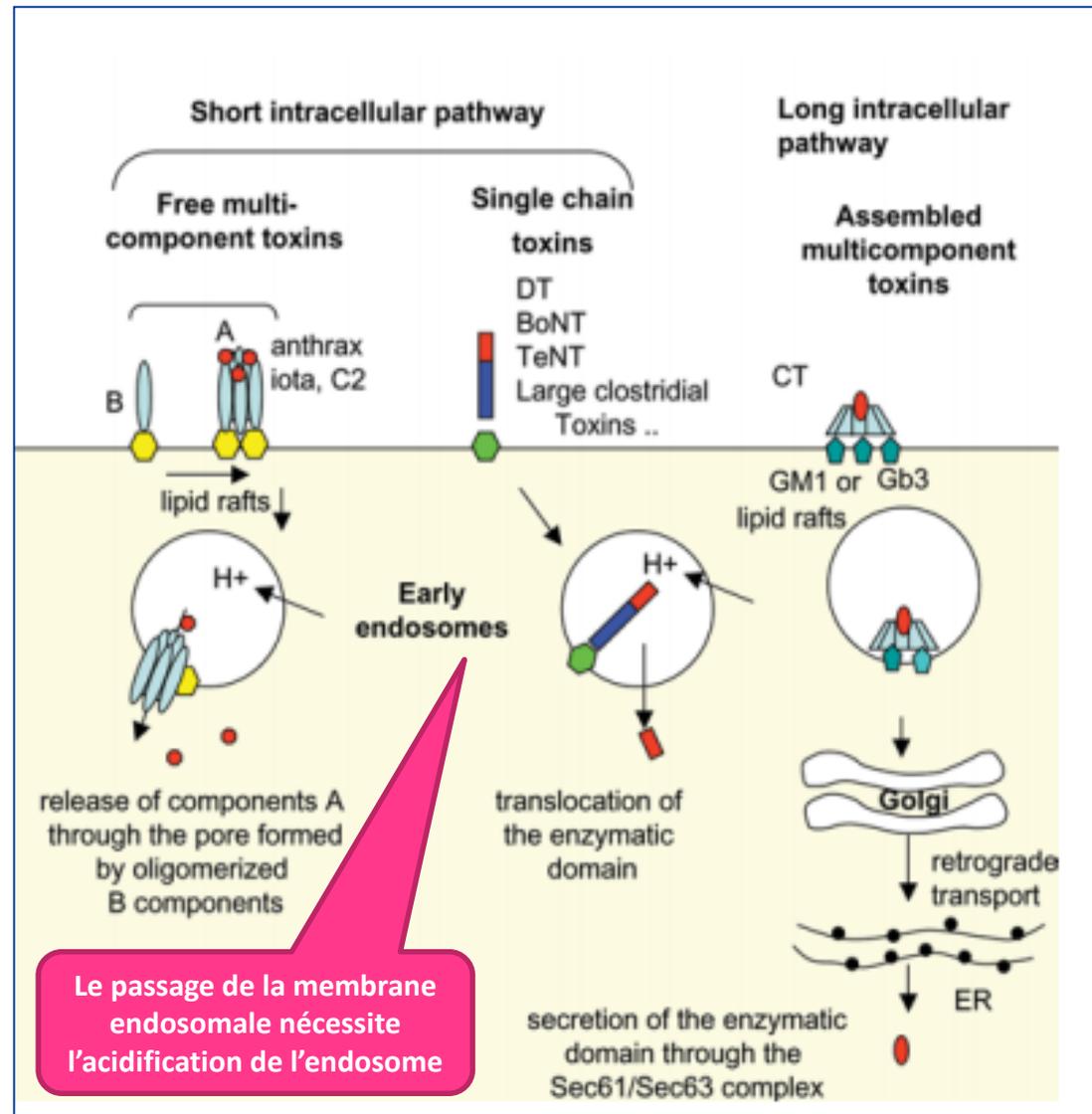
- Ces toxines pénètrent dans la cellule et vont modifier une cible intracellulaire par voie enzymatique
- Constituées d'au moins **3 domaines** : domaine de liaison, domaine de translocation, domaine enzymatique actif ;
- Leur mécanisme d'action implique **4 étapes** :
 - reconnaissance d'un récepteur spécifique par le **domaine de liaison**
 - internalisation dans des vésicules d'endocytose
 - passage du domaine actif dans le cytosol, grâce au **domaine transmembranaire** de translocation, qui forme un pore dans la membrane de la vésicule
 - modification de la cible intracellulaire par le **domaine catalytique**

≈ PFTs

Toxines à cible intracellulaire

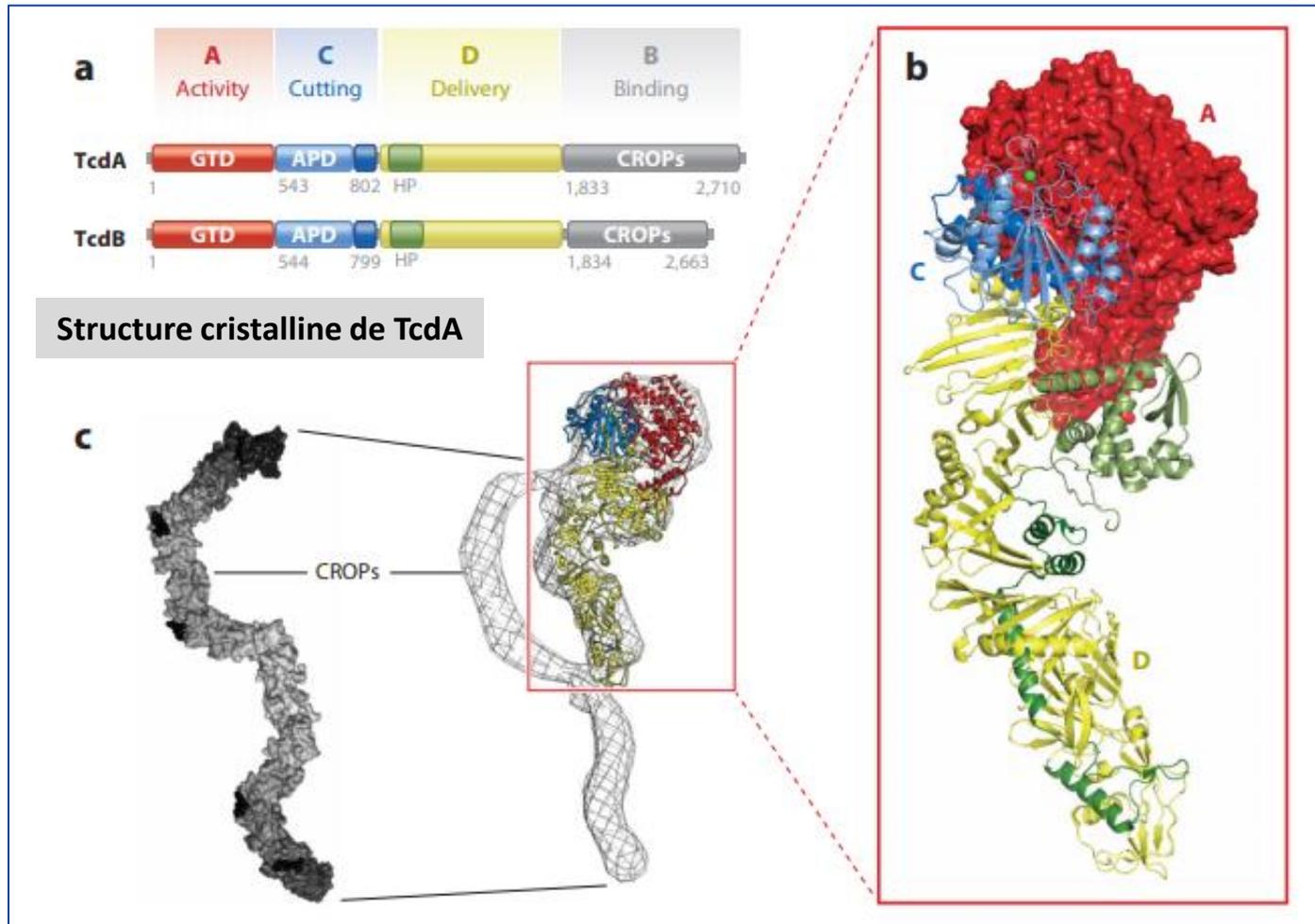
❑ Mécanisme d'action global

Les 3 domaines fonctionnels sont portés soit par une seule protéine, soit par 2 protéines (toxines AB). Dans ce cas, les domaines récepteur et de translocation sont portés par la chaîne B, l'activité catalytique par la chaîne A.



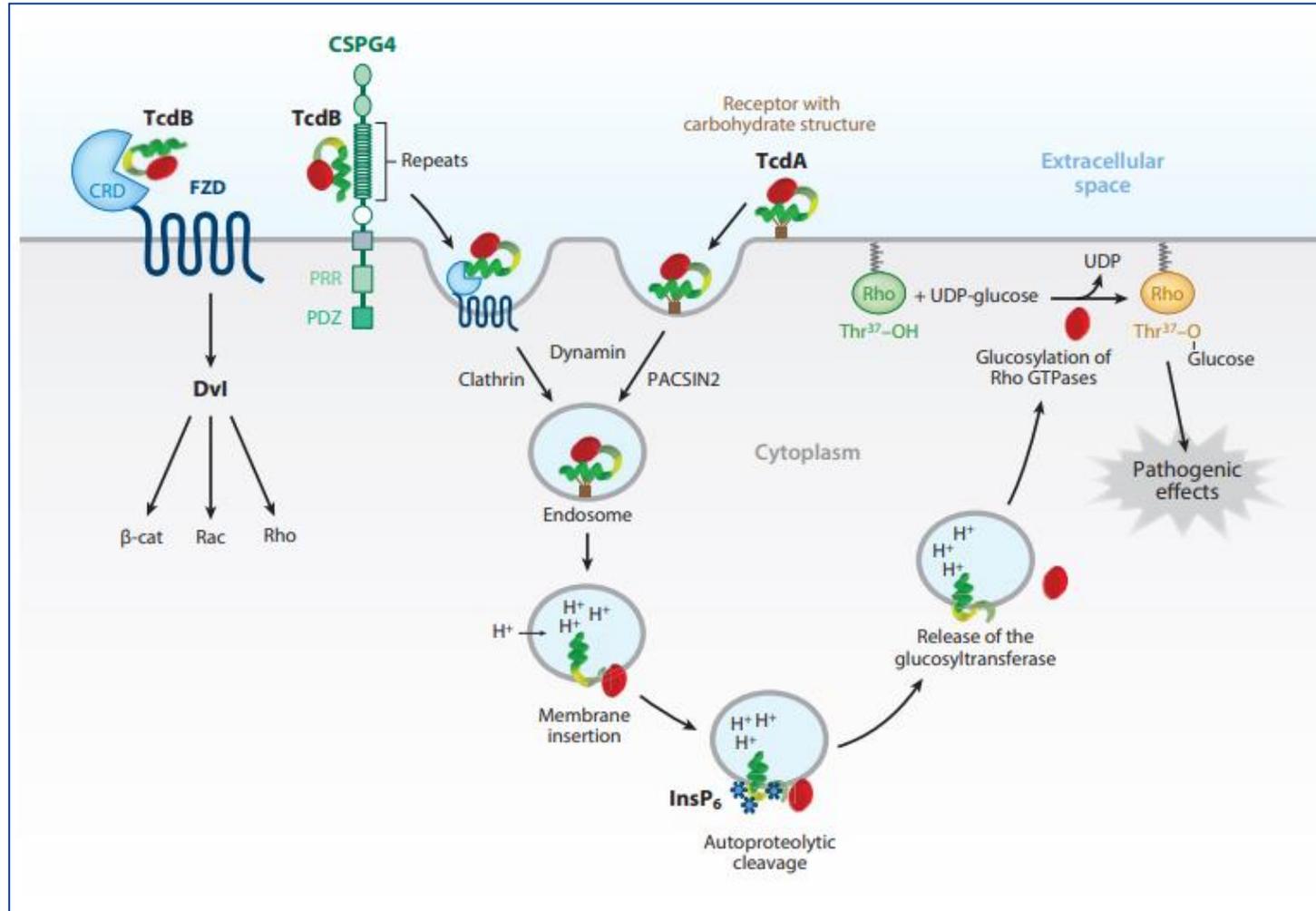
❑ Toxines TcdA and TcdB de *C. difficile*

- Structure : 49% d'identité (AA), 63% de similarité entre les deux toxines



☐ Toxines TcdA and TcdB de *C. difficile*

- Mécanisme d'action



CSPG4 :
Chondroitin sulfate proteoglycan 4

FZD :
Frizzled protein

PVRL3 :
Protein poliovirus receptor-like 3

Les toxines très diverses en termes de structure, d'action enzymatique et de cibles intracellulaires ; elles sont à l'origine d'effets très différents

Toxine /bactérie	Cible intracellulaire	Mécanisme action	Effet sur la cellule
Toxine diphtérique (<i>Corynebacterium diphtheriae</i>)	Facteur d'élongation de la traduction EF-2	ADP-ribosylation	Arrêt synthèse protéique → mort cellulaire
Toxine botulique (<i>Clostridium botulinum</i>)	Protéine spécifique des motoneurones	Protéase	Blocage de la transmission synaptique de l'acetyl choline
Toxine cholérique AB5 (<i>Vibrio cholerae</i>)	Protéine régulatrice Gs	ADP-ribosylation (blocage Gs sous forme active)	Activation adénylate cyclase : ↑ AMPc → ouverture canaux Cl ⁻ , fuite électrolytes et eau
Toxine de Shiga AB5 (<i>Shigella dysenteriae</i>)	ARN ribosomal 28S	N-glycosidase (excision A4324 = dépurination)	Arrêt synthèse protéique → mort cellulaire
Toxines TcdA et TcdB (<i>Clostridioides difficile</i>)	Protéines régulatrices G (Rho et Rac)	Glycosylation	
Toxine CDT (<i>C. difficile</i>)	Actine	ADP-ribosylation	Inhibition de la polymérisation de l'actine

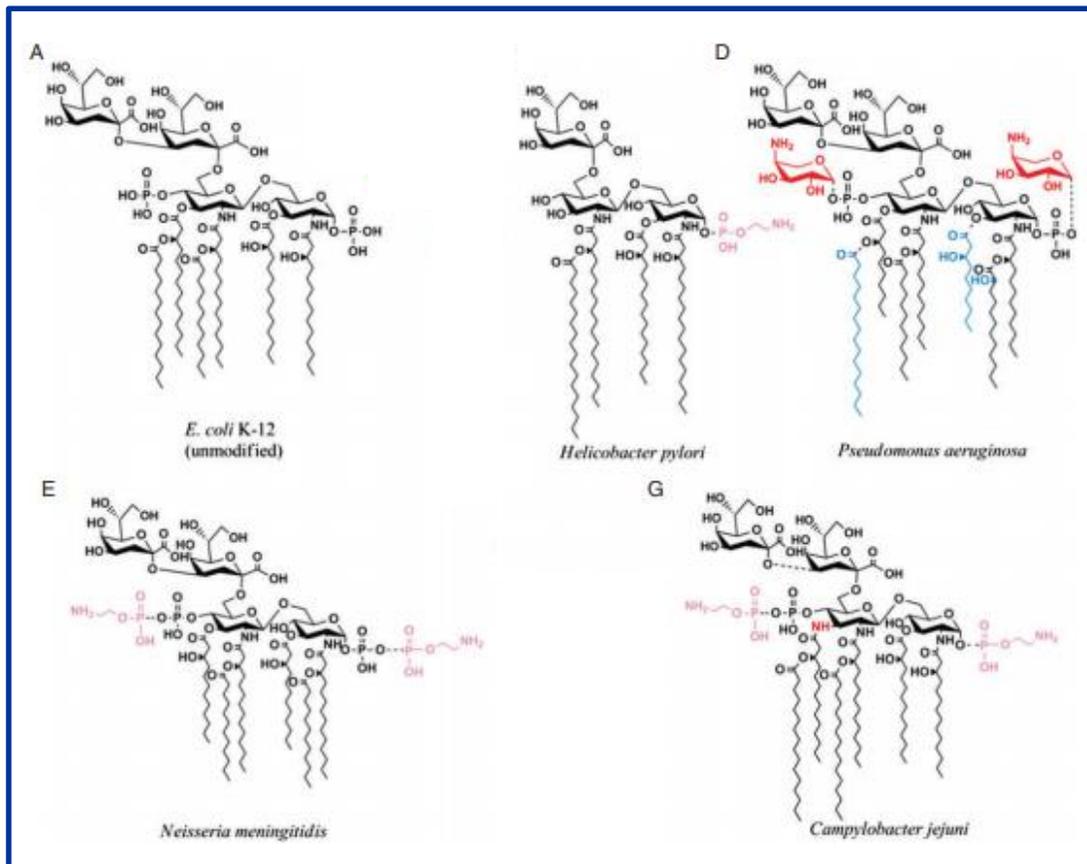
Modulation de l'effet des toxines : encore une histoire d'interaction ligand/récepteur

Exemple de la toxine Tcdb de *C. difficile*

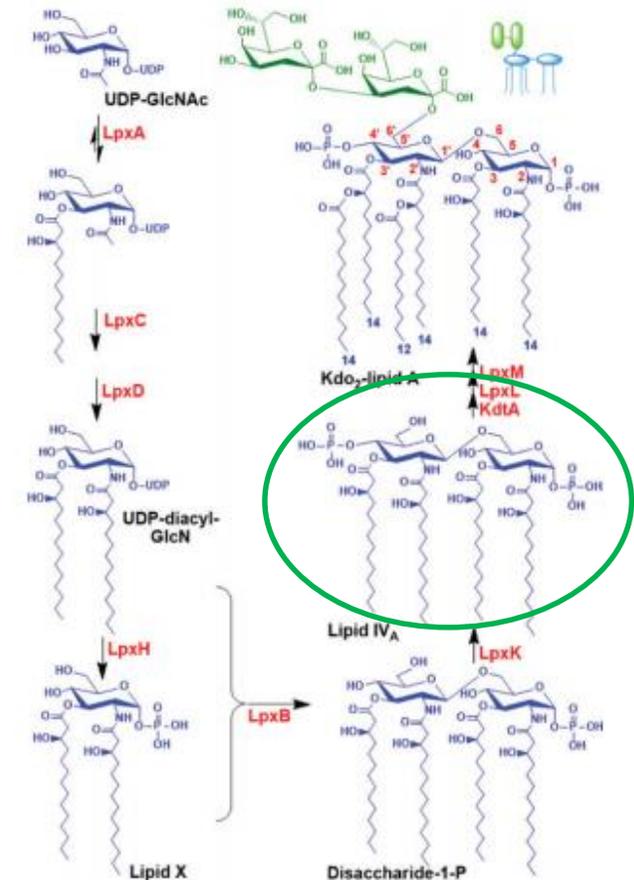
Exemple de l'endotoxine des bactéries à Gram (-)

LPS des bactéries à Gram négatif

- Des variations physiologiques sur le LPS de bactéries à Gram négatif



- Des précurseurs sans activité pro-inflammatoire



Etapes de la synthèse du LPS de *E. coli*

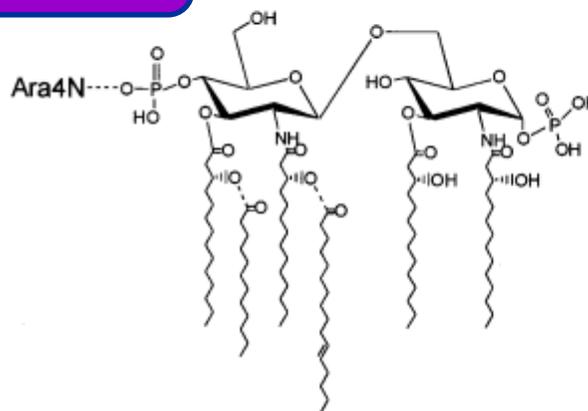
LPS des bactéries à Gram négatif

□ Des variations du LPS pour échapper à la réponse innée de l'hôte : exemple de *Yersinia pestis*, agent de la peste

- Pathogène des rongeurs et accidentellement de l'homme, via les morsures de puces, chez lesquelles il peut survivre
- Réservoir environnemental ?
- Modification du LPS en fonction de la température environnementale

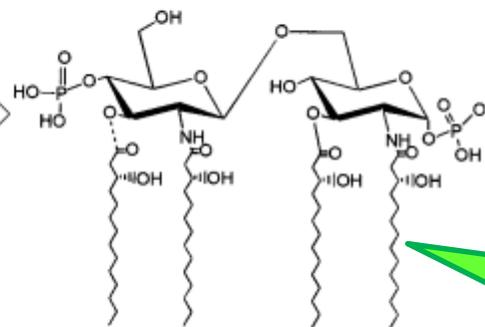
Température corporelle
puce (21-25°C)

27°C



37°C

Température corporelle
rongeurs et homme

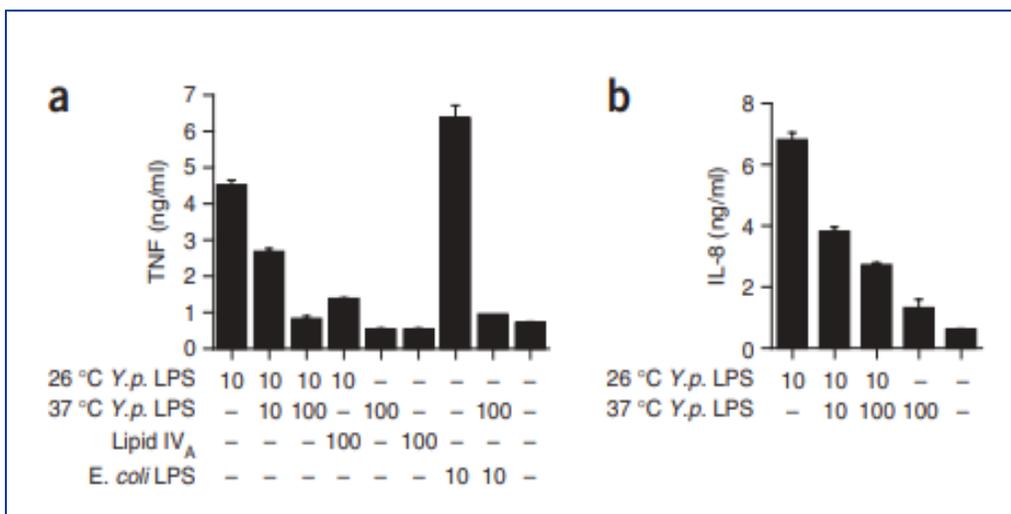


Similaire au lipide
IVa de *E. coli*

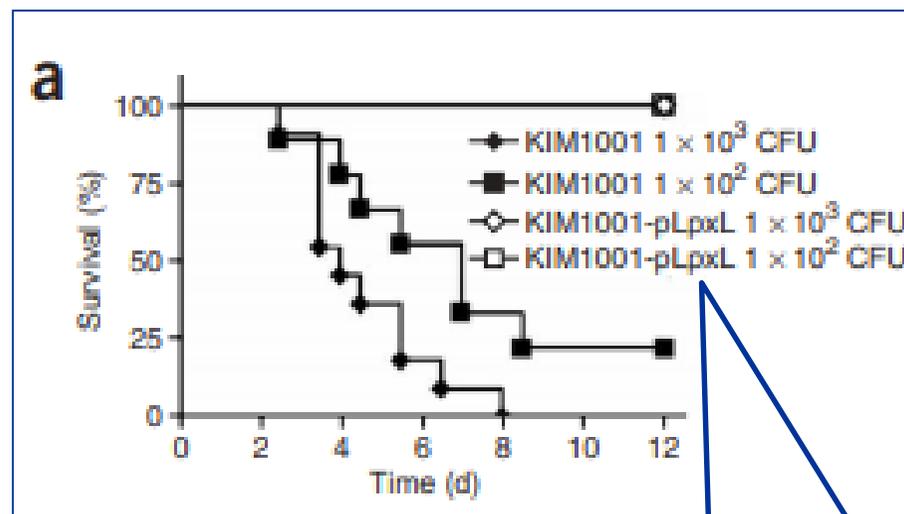
LPS des bactéries à Gram négatif

- Des variations du LPS pour échapper à la réponse innée de l'hôte : exemple de *Yersinia pestis*, agent de la peste
 - Conséquences d'une telle variation ?

Sur l'induction de la réponse inflammatoire



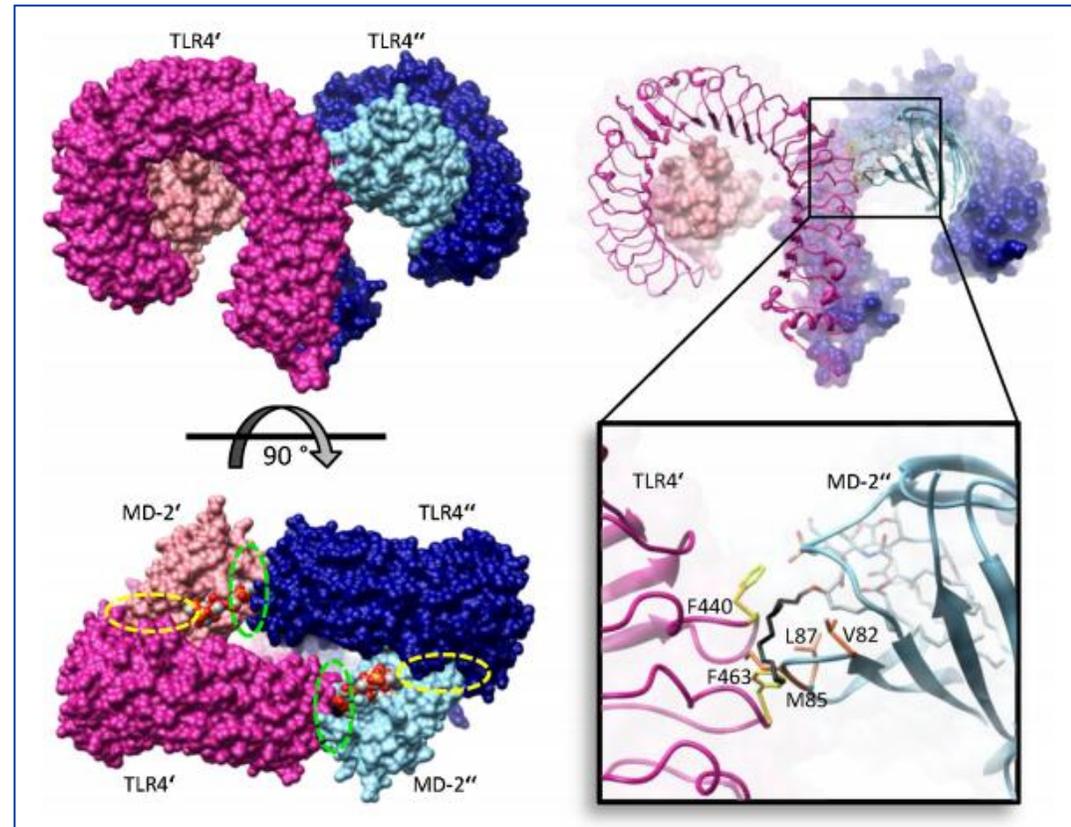
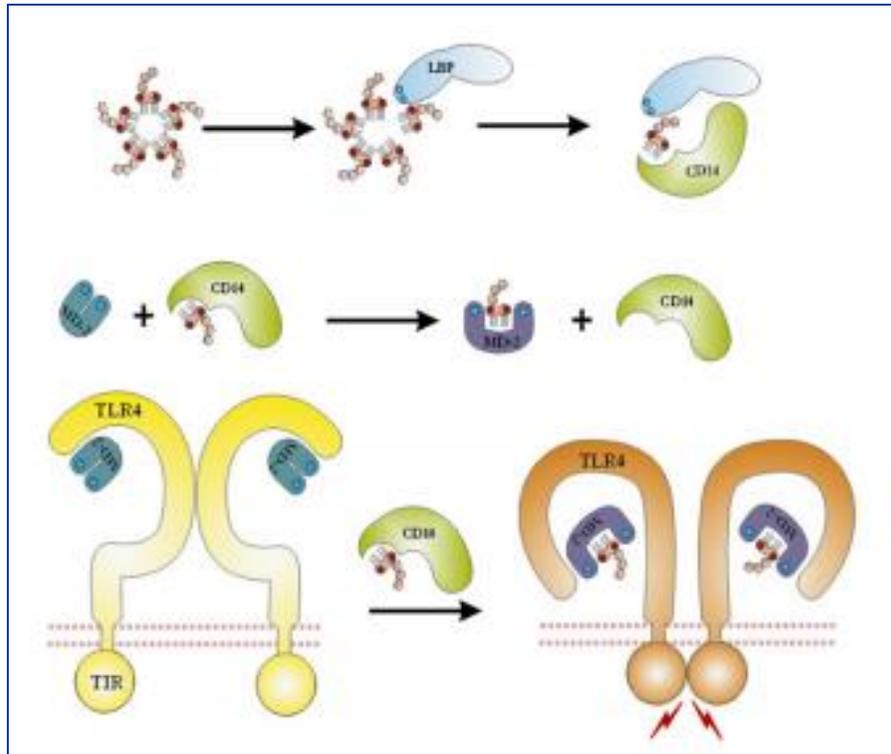
Sur l'infection en modèle animal



Souche exprimant de manière constitutive un LPS hexa-acylé

LPS des bactéries à Gram négatif

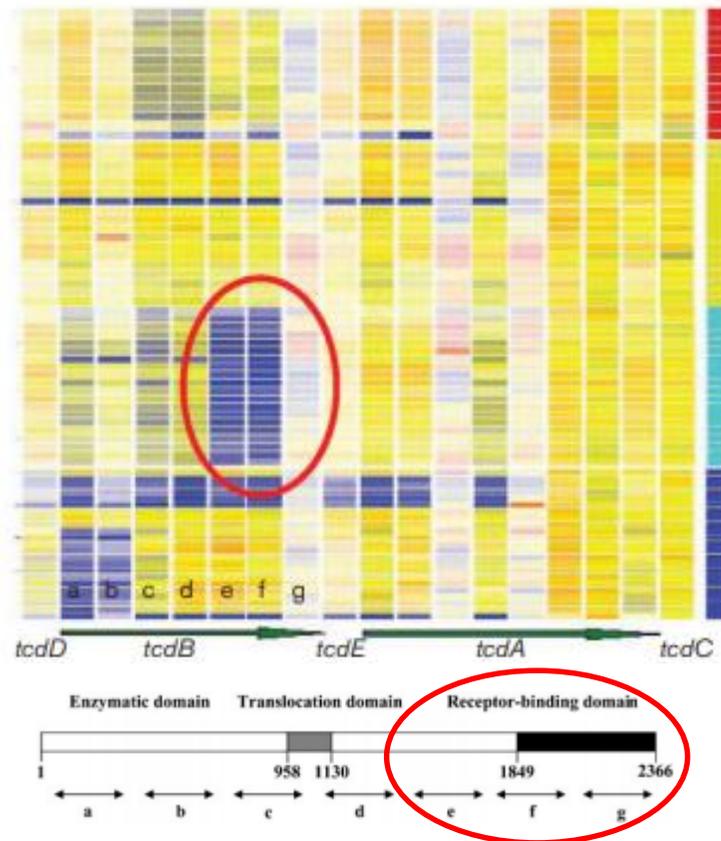
- L'absence de 2 chaînes acyles limite la réaction inflammatoire, qui autrement entraîne l'élimination de la bactérie



La toxine TcdB de *C. difficile*

□ Une lignée de *C. difficile* plus virulente : la lignée 027 ; pourquoi ?

Analyse génomique comparative des souches des *C. difficile*, dont des souches de la lignée 027 ; couleur bleue = divergence de séquence



Souches 027

Toxin B cytotoxicity assay

	630	Souches 027	
		CD 196	R 20291
VERO	2.00E-07	1.60E-09	1.00E-09
HELA	3.00E-06	1.00E-08	4.00E-10
3T3	3.00E-06	1.00E-08	4.00E-10
NG108	2.50E-04	3.80E-06	6.00E-08
MDCK	9.00E-05	3.00E-05	1.60E-06
CaCO2	9.00E-05	3.00E-05	1.20E-07
Hep2	1.00E-06	3.50E-08	4.00E-10
CHO	1.20E-05	1.24E-08	1.00E-08

Cytotoxicity as expressed as toxin molarity (M) that induces 50% cell rounding after 24 hour exposure.

TcdB₀₂₇ est cytotoxique sur plusieurs lignées cellulaires, en raison des variations de la région C-terminale (domaine de liaison au récepteur)

Take home messages

- ❑ Les effets délétères des toxines sont liés à de nombreux mécanismes
- ❑ Quel que soit le mécanisme, la première étape correspond à l'interaction de la toxine avec son récepteur spécifique
- ❑ Les récepteurs déterminent le tropisme de la toxine
- ❑ Une modification de structure de la toxine peut impacter son interaction avec son récepteur et modifier plus ou moins son effet