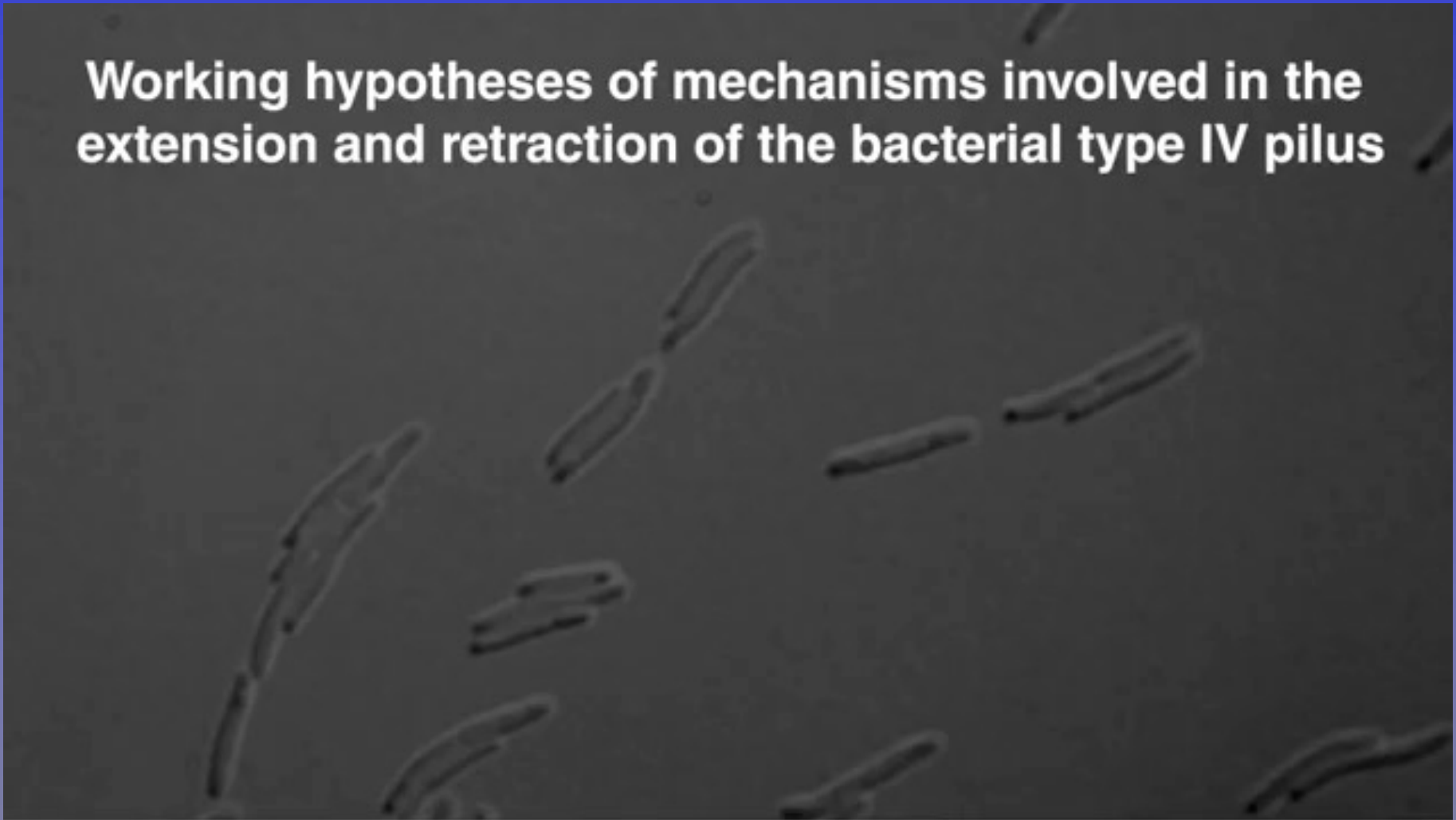
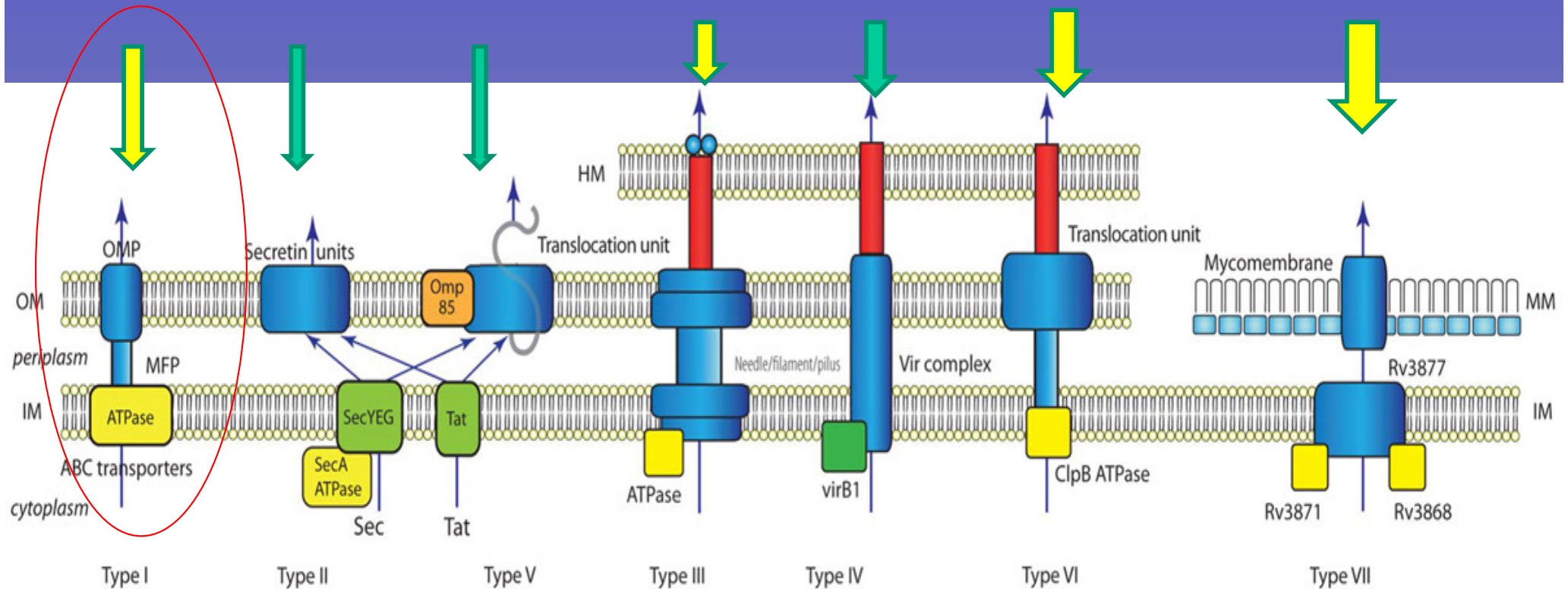


Working hypotheses of mechanisms involved in the extension and retraction of the bacterial type IV pilus



<https://www.youtube.com/watch?v=HGvnrWrudpA>

I sistemi di secrezione (2)



(Tseng et al., 2009)

SISTEMA DI SECREZIONE DI TIPO I (sistema ABC)

Questi sistemi sono Sec-indipendenti. Fanno parte di una più grande famiglia di autotrasportatori presenti anche fra gli eucarioti caratterizzati da un dominio ABC che forniscono l'energia del trasporto attraverso l'idrolisi dell'ATP.

Nel sistema di tipo I è presente la proteina ABC con 6 o 12 domini transmembranari che sono supposti formare le pareti del canale da trasporto. A questa si aggiunge una proteina che agisce da ponte fra le due membrane (Membrane Fusion Protein)(MFP) e una proteina sulla ME (Outer Membrane Factor). Spesso questi componenti sono codificati da geni presenti su di un unico operone.

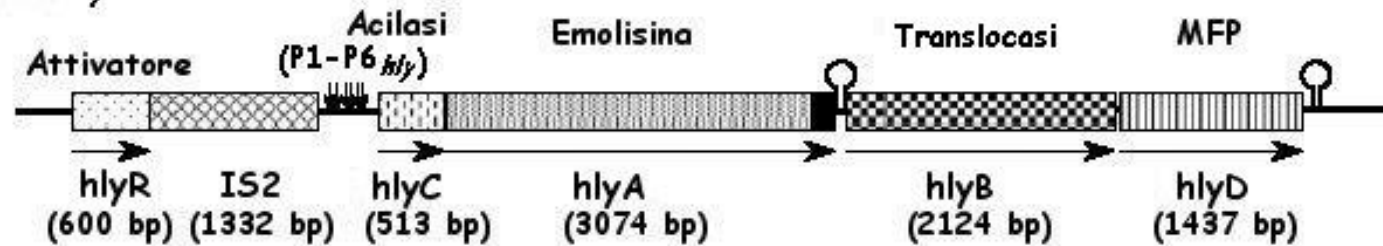
In *E.coli* il prototipo del sistema di secrezione di tipo I è il sistema di trasporto della alfa-emolisina. In questo caso il gene che codifica per la proteina di ME, TolC, non è compreso nell'operone *hyl*. Tutte le tossine di tipo RTX (Repeats In Toxin) vengono trasportate da un sistema di tipo I. Le esoproteine hanno una sequenza segnale al C-terminale che però non viene processata.

Questa sequenza è indicata come GG-repeats e può legare ioni Calcio

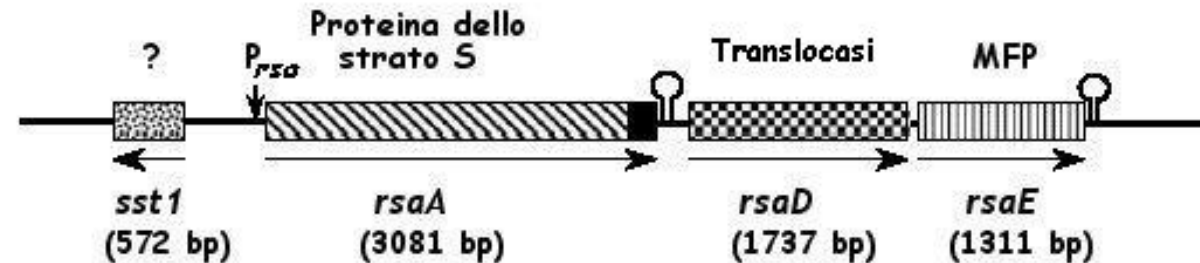
Altre proteine secrete tramite questo sistema sono: le metalloproteasi di *Erwinia chrysanthemi*, PrtA, B, C e G, l'emoproteina di *Serratia marcescens*, HasA, l'adenilato ciclasi di *Bordetella pertussis*, la proteasi alcalina di *Pseudomonas aeruginosa* ed ancora altre proteasi, lipasi, proteine dello strato S, emoproteine e battericine.

L'organizzazione genetica

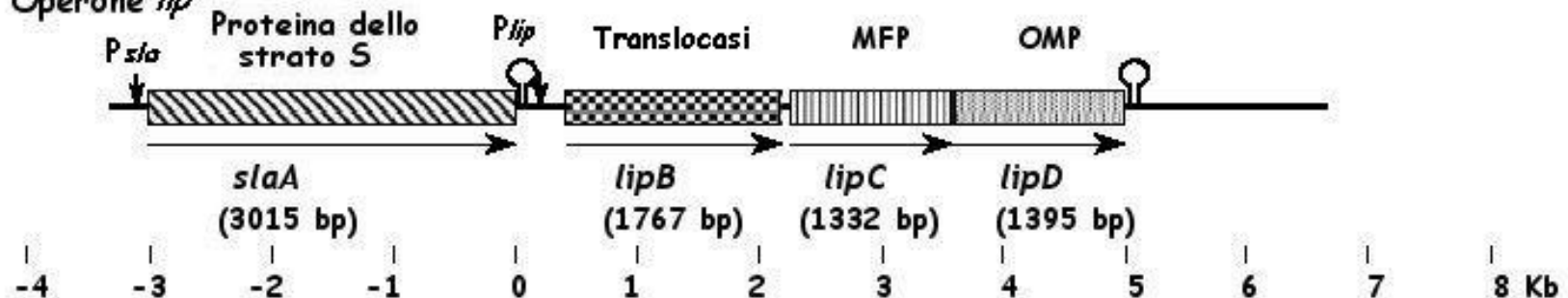
Operone *hly*

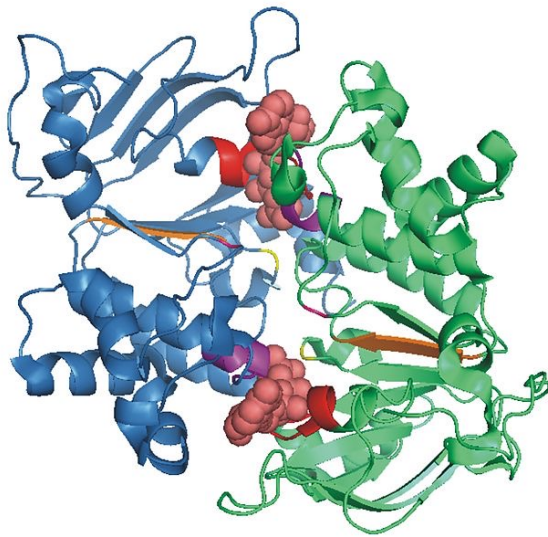


Operone *rsa*



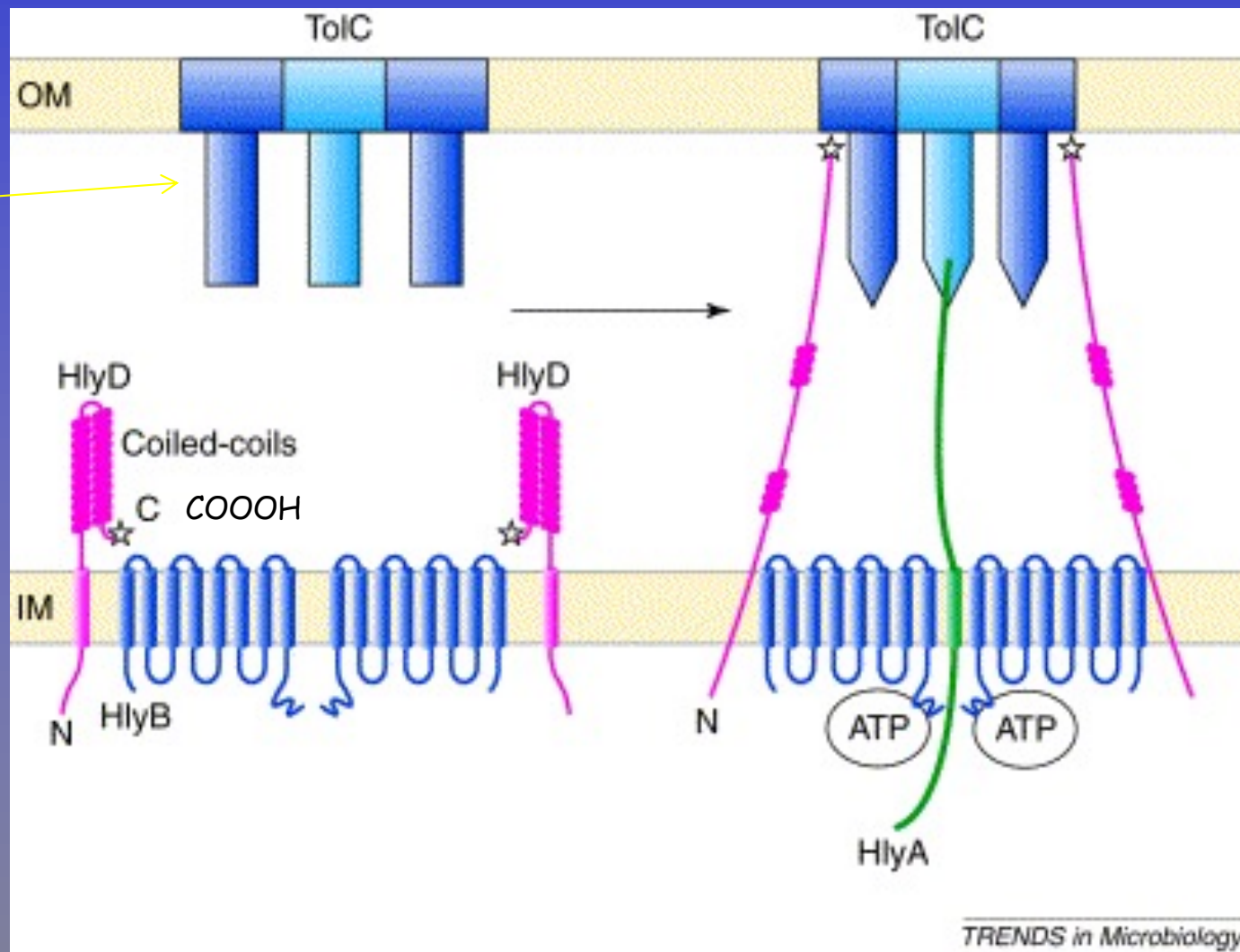
Operone *lip*

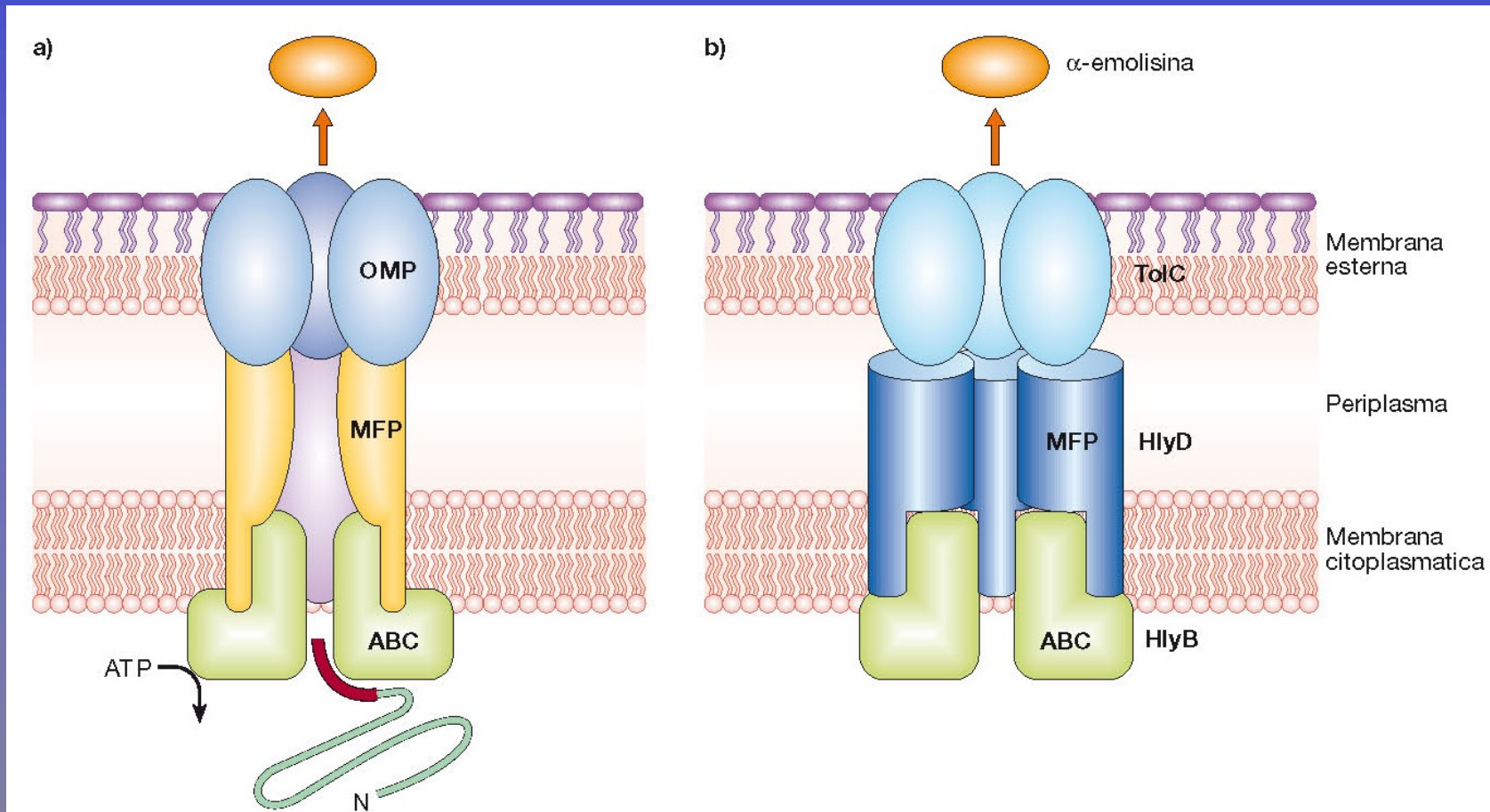


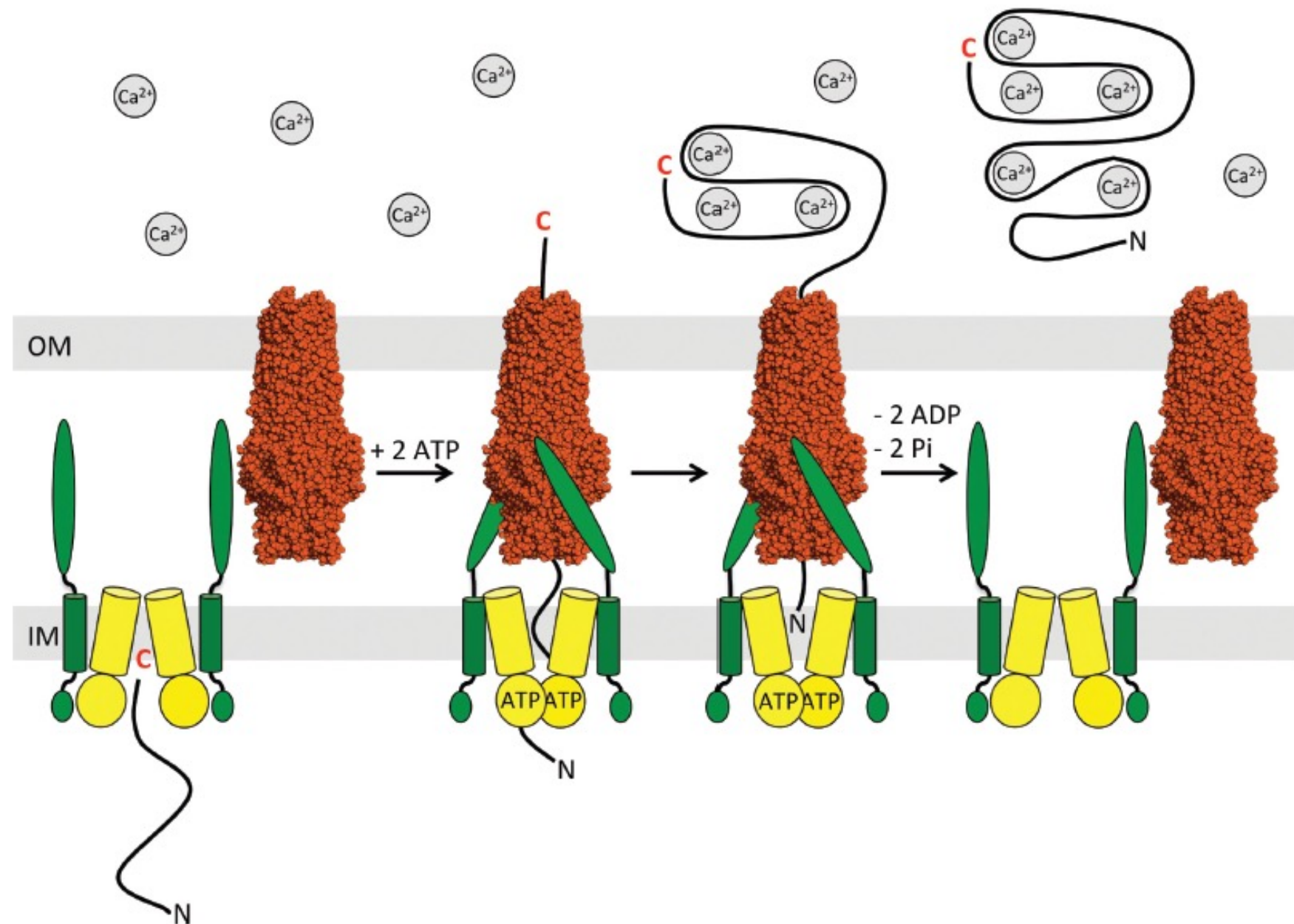


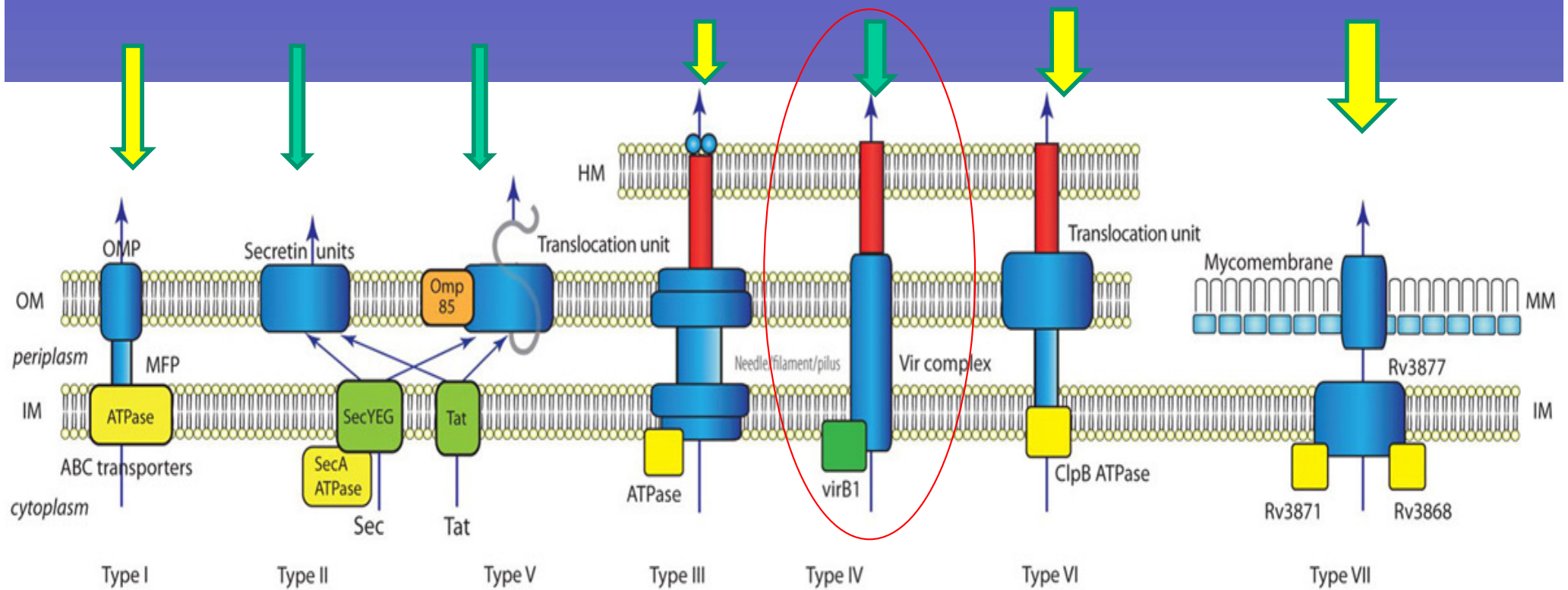
La proteina ABC
comprende 2 domini di
Walker, A e B, che
sono presenti in molte
ATPasi e un dominio di
unione, Linker peptide
o ansa C

Proteina a botte







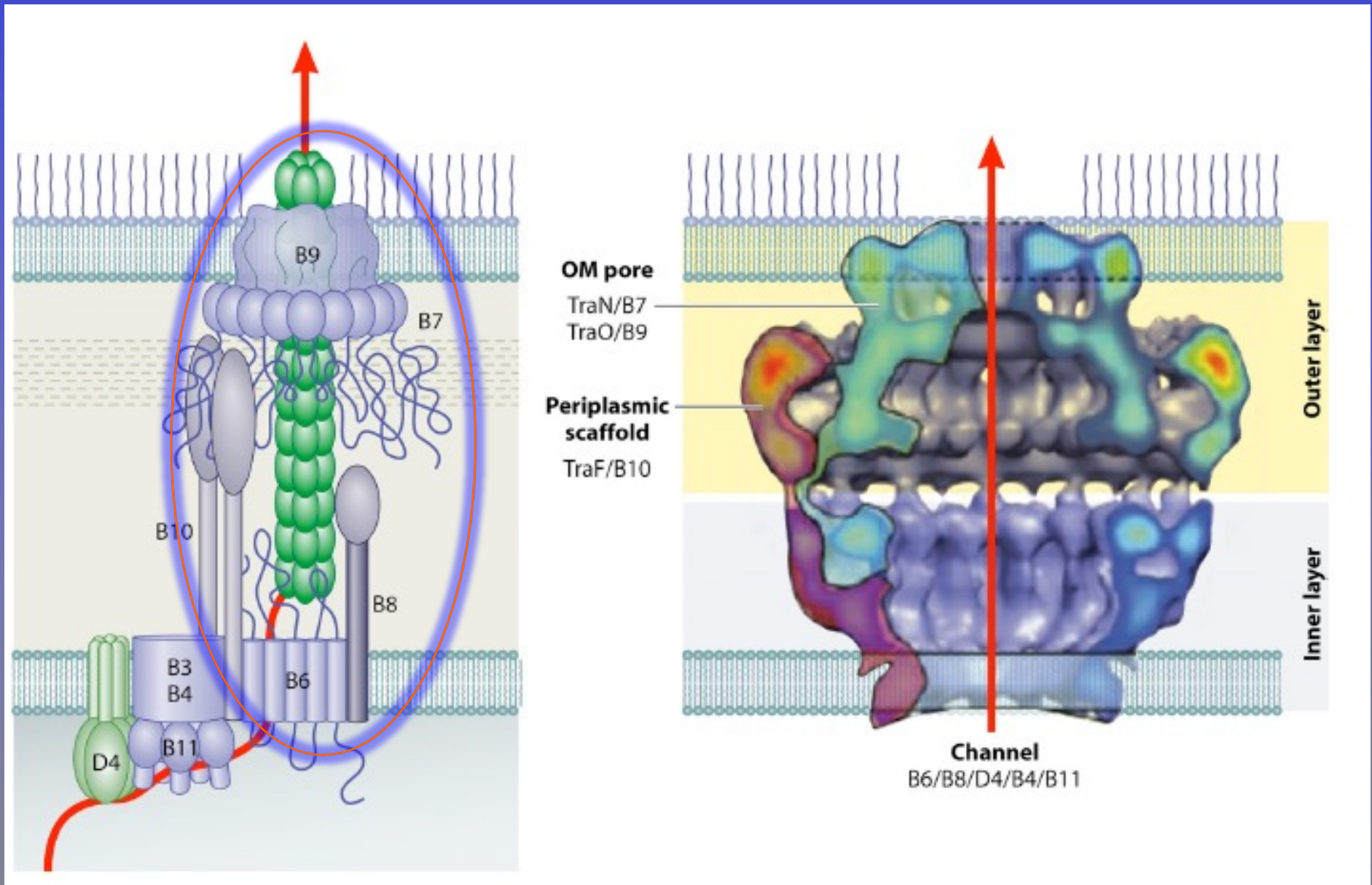


(Tseng et al., 2009)

I sistemi di secrezione di tipo IV sono stati recentemente definiti sulla base delle omologie tra i componenti :

- (i) il sistema di trasferimento del T-DNA di *Agrobacterium tumefaciens* (T4ASS)
- (ii) il sistema di coniugazione (Tra), coinvolto nel trasferimento dei plasmide IncI (T4BSS)
- (iii)
- (iv) il sistema Ptl di *Bordetella pertussis*, necessario per l'esportazione della tossina della pertosse.

Il poro di secrezione (T4ASS): VirB6-VirB10



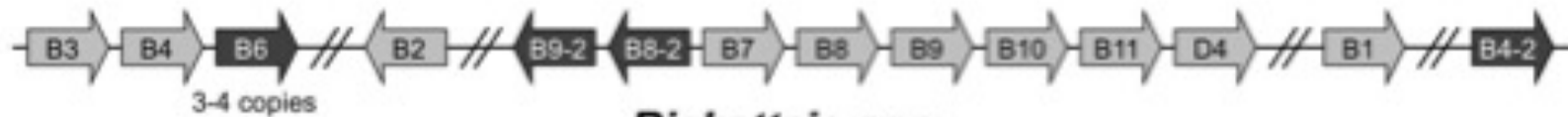
Elementi comuni al **T4ASS (*A. tumefaciens*)** e **T4BSS (*L.pneumophila*)** sono:

- entrambi liberano le proteine (o anche il DNA) attraverso un poro nella cellula ospite.
- Il riconoscimento delle proteine da esportare avviene mediante chaperones nel citoplasma batterico.
- La sequenza di riconoscimento degli effettori si trova al C-terminale.
 - Le proteine effettrici non hanno omologie tra di loro.



A. tumefaciens

11 geni



Rickettsia spp.

Type IVB

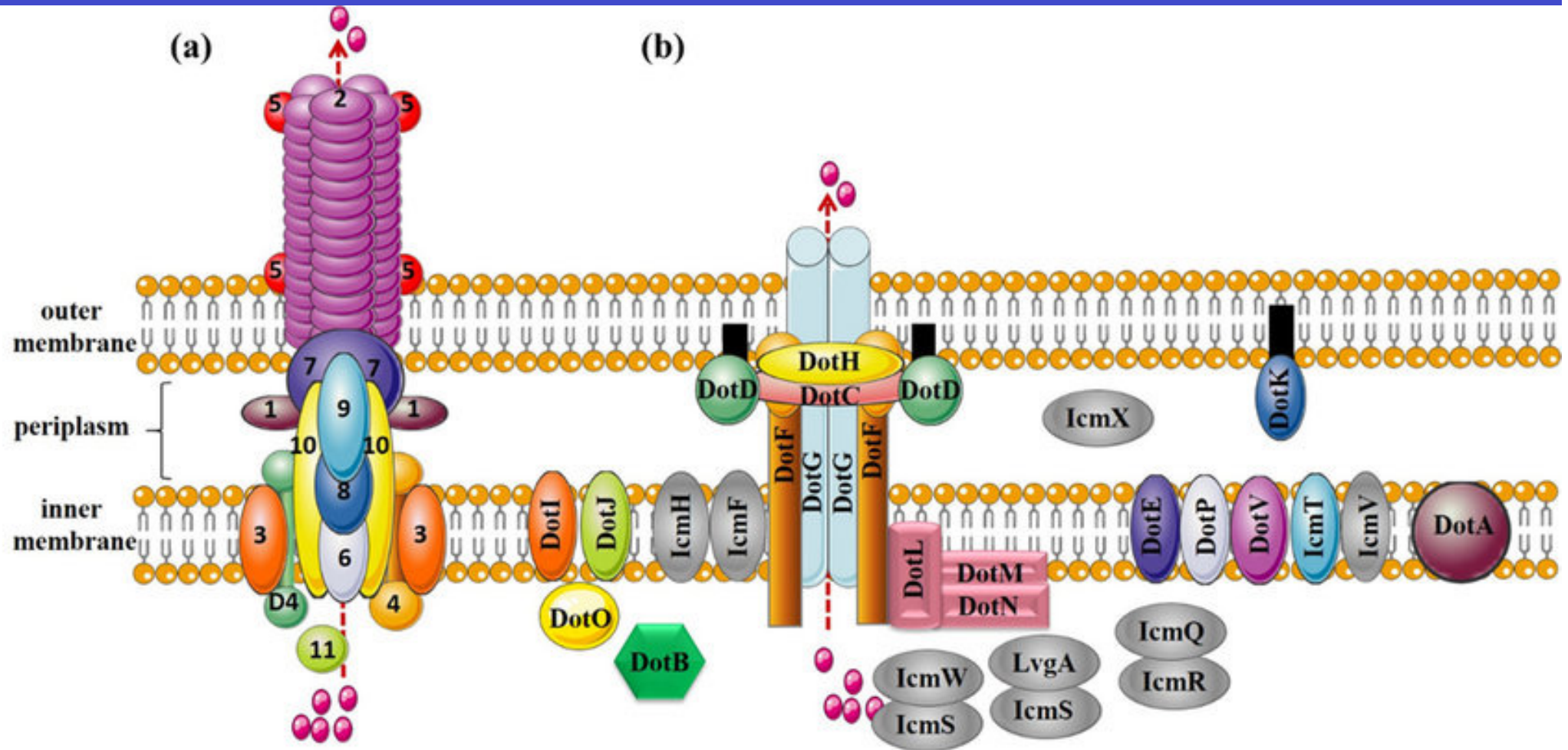


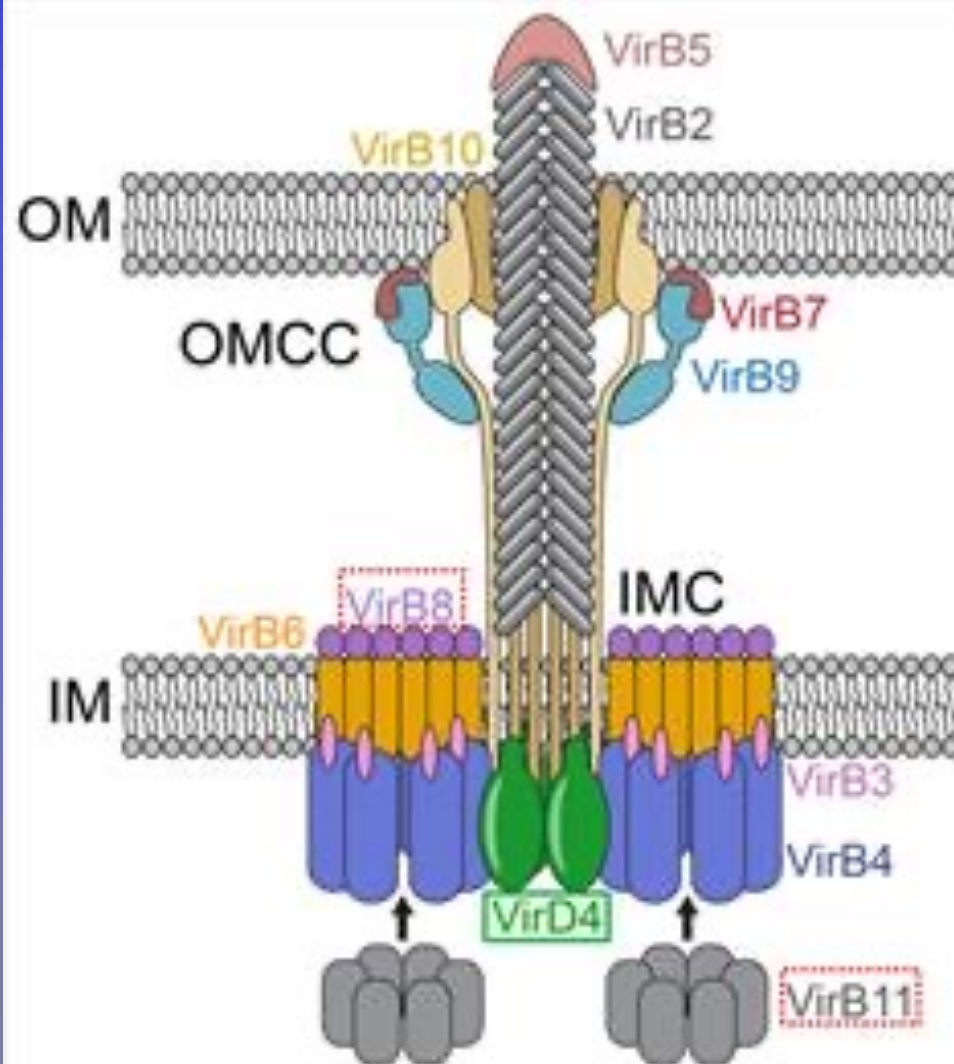
L. pneumophila

27 geni



C. burnetii





Type IV A SECRETION SYSTEM

Pilus

VirB5 (TrwJ)

VirB2 (TrwM)

Outer Membrane Core Complex

N-terminus of VirB10 (TrwE)

VirB7 (TrwH)

VirB9 (TrwF)

Inner Membrane Complex

VirB8 (TrwG)

VirB6 (TrwI)

VirB3 (TrwL)

C-terminus of VirB10 (TrwE)

Energy center

VirD4 (TrwB)

VirB4 (TrwK)

VirB11 (TrwD)

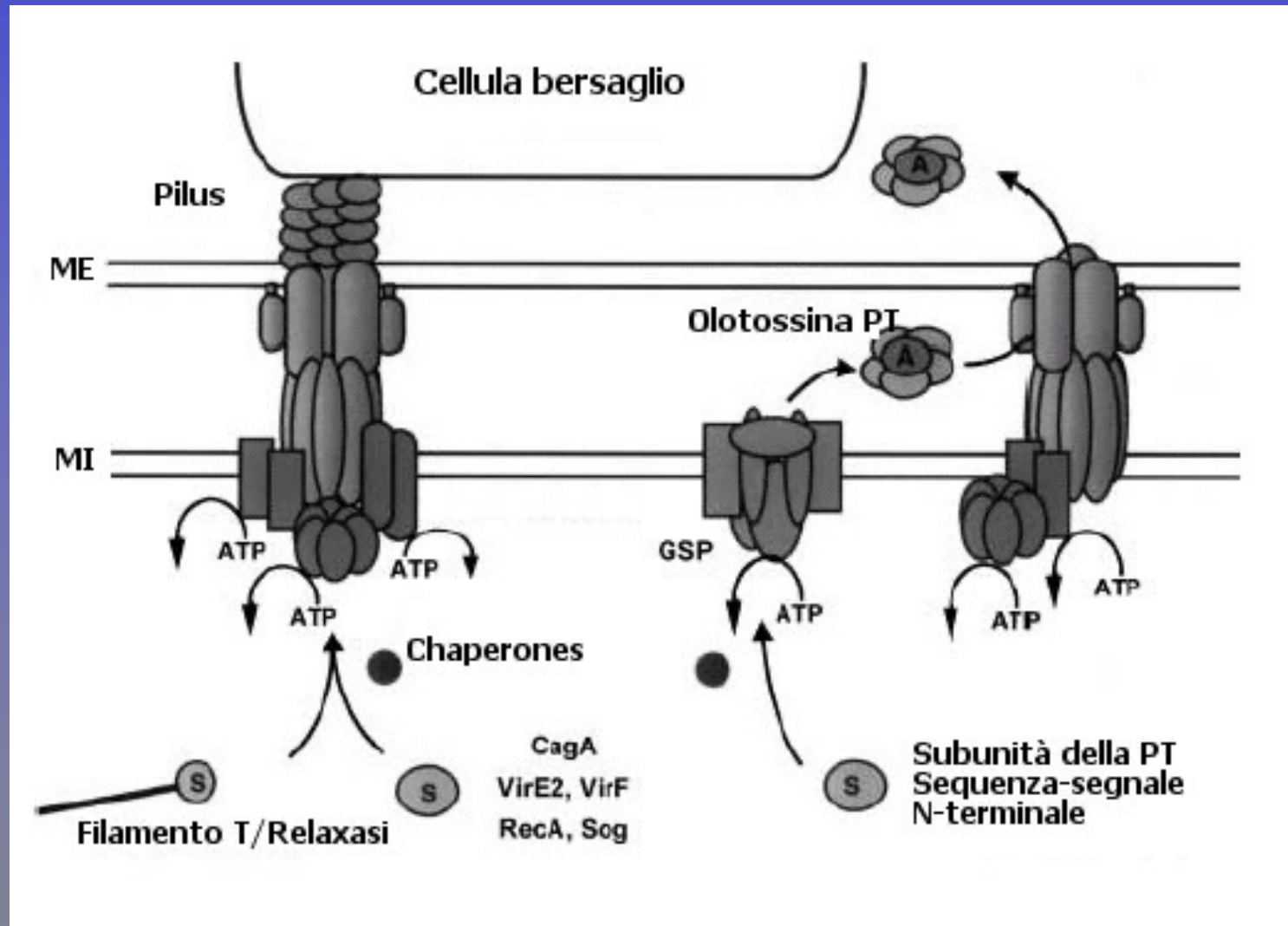
SISTEMA DI SECREZIONE DI TIPO IV

Uno dei prototipi è rappresentato dal processo di esportazione della tossina ADP-ribosiltransferasi di *Bordetella pertussis*. Questa è composta da 5 differenti subunità di cui la S1 è l'unità catalitica. Le singole unità vengono trasportate nel periplasma dove sono associate e trasportate attraverso un sistema di tipo IV.

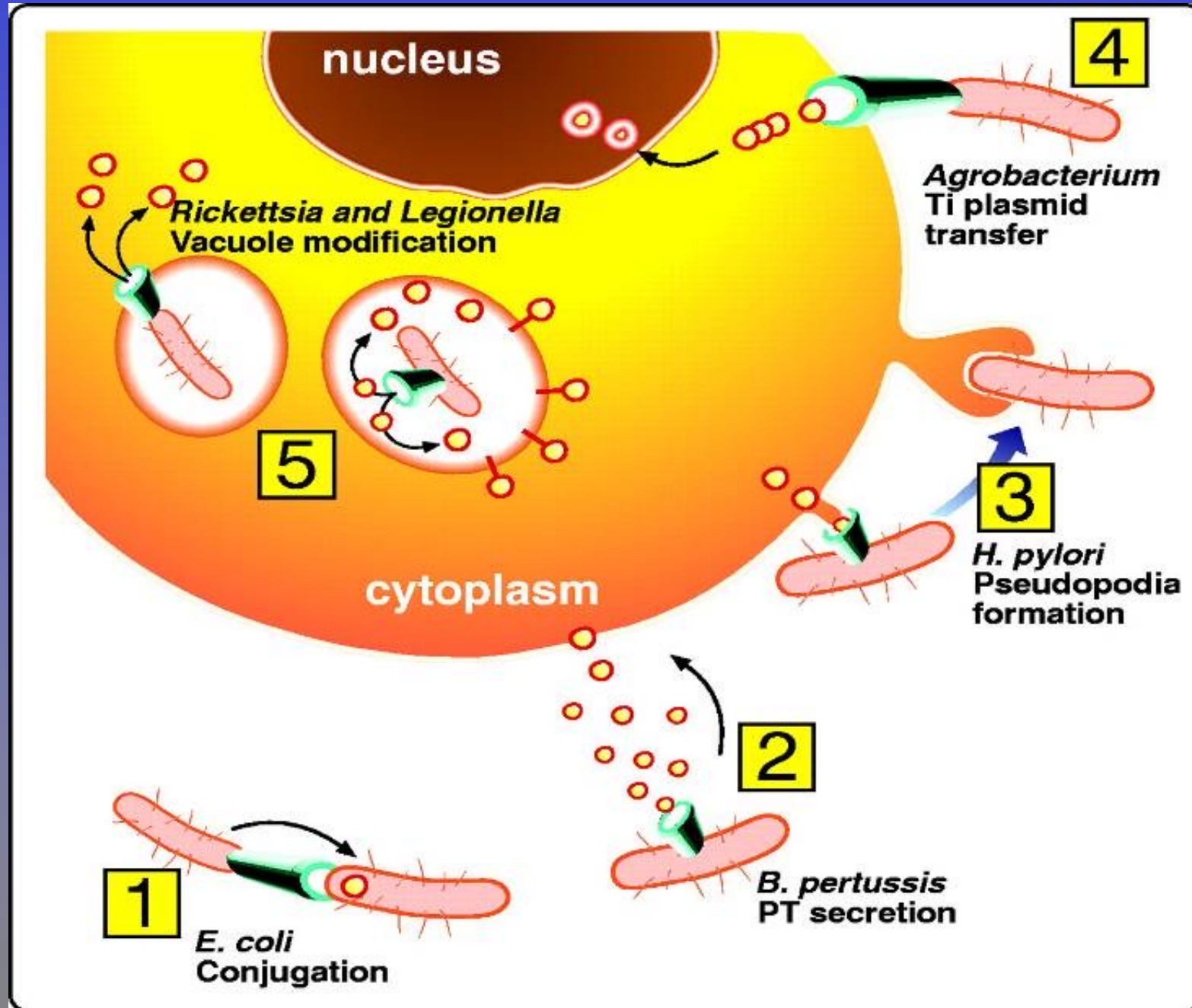
Questo sistema è composto da nove proteine i cui geni corrispondenti sono associati in un operone con quelli della *ptX*.

- Il sistema Ptl di *B. pertussis* esporta la tossina della pertosse (PT), una tossina A/B multisubunità costituita da 5 subunità S1-S5. La subunità S1, o dominio A, è quello biologicamente attivo.
- Il dominio B è un pentamero costituito dalle rimanenti subunità S2-S5 presenti in un rapporto molare di 1:1:2:1, rispettivamente. I percorsi di esportazione del T-DNA e della PT differiscono significativamente.
 - L'esportazione della PT è una reazione di traslocazione a due stadi. Le subunità della PT vengono prima secrete attraverso la membrana plasmatica tramite il sistema Sec, poi l'olotossina si assembla nel periplasma e viene quindi esportata attraverso il sistema Ptl oltre la membrana esterna.

I sistemi a due steps (Bordetella pertussis) o un solo stadio (gli altri)



Sistema di secrezione di tipo IV

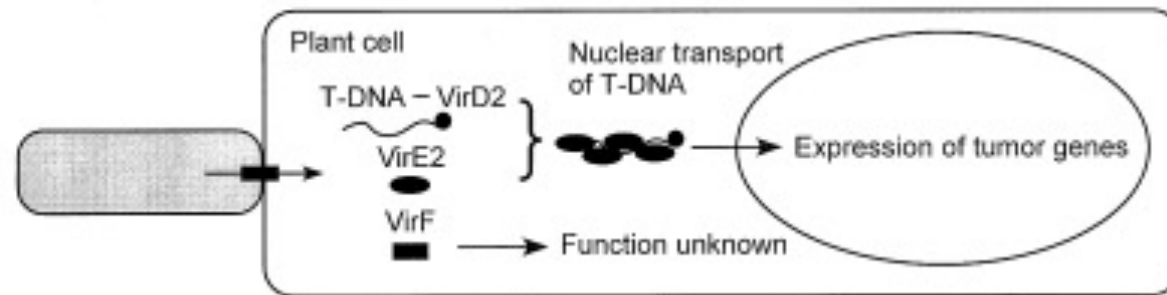


SS TIPO IV

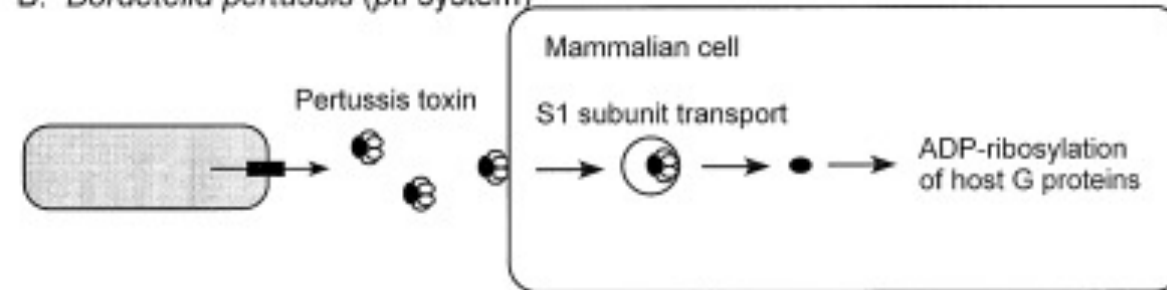
I geni *ptl* sono strettamente correlati ai geni *tra* richiesti per il trasferimento dei plasmidi ed i geni *vir* di *Agrobacterium tumefaciens* richiesto per il trasferimento del DNA trasformante alla pianta. Anche in questo caso la maggior parte dei costituenti hanno forte omologia con le proteine dell'assemblaggio del pilo coniugativo.

Gli altri batteri che utilizzano questo sistema sono: *L.pneumophila* che esporta le proteine responsabili per lo stabilirsi dello stato intracellulare di *Legionella* nei macrofagi. *H.pylori* che esporta la Proteina CagA che viene traslocata direttamente nel citoplasma delle cellule ospiti e che interferisce con il sistema di trasduzione del segnale

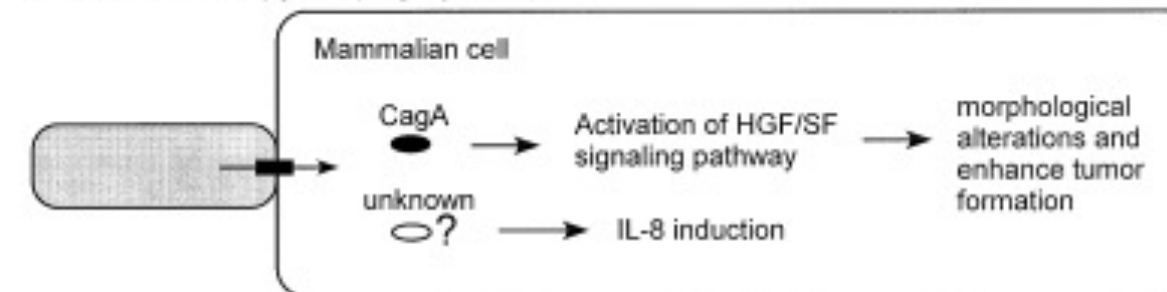
A. *Agrobacterium tumefaciens* (*virB* system)



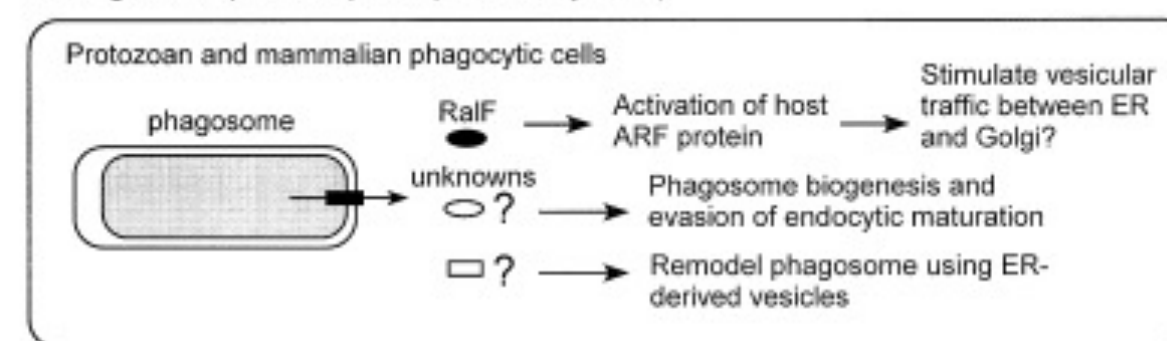
B. *Bordetella pertussis* (*ptl* system)



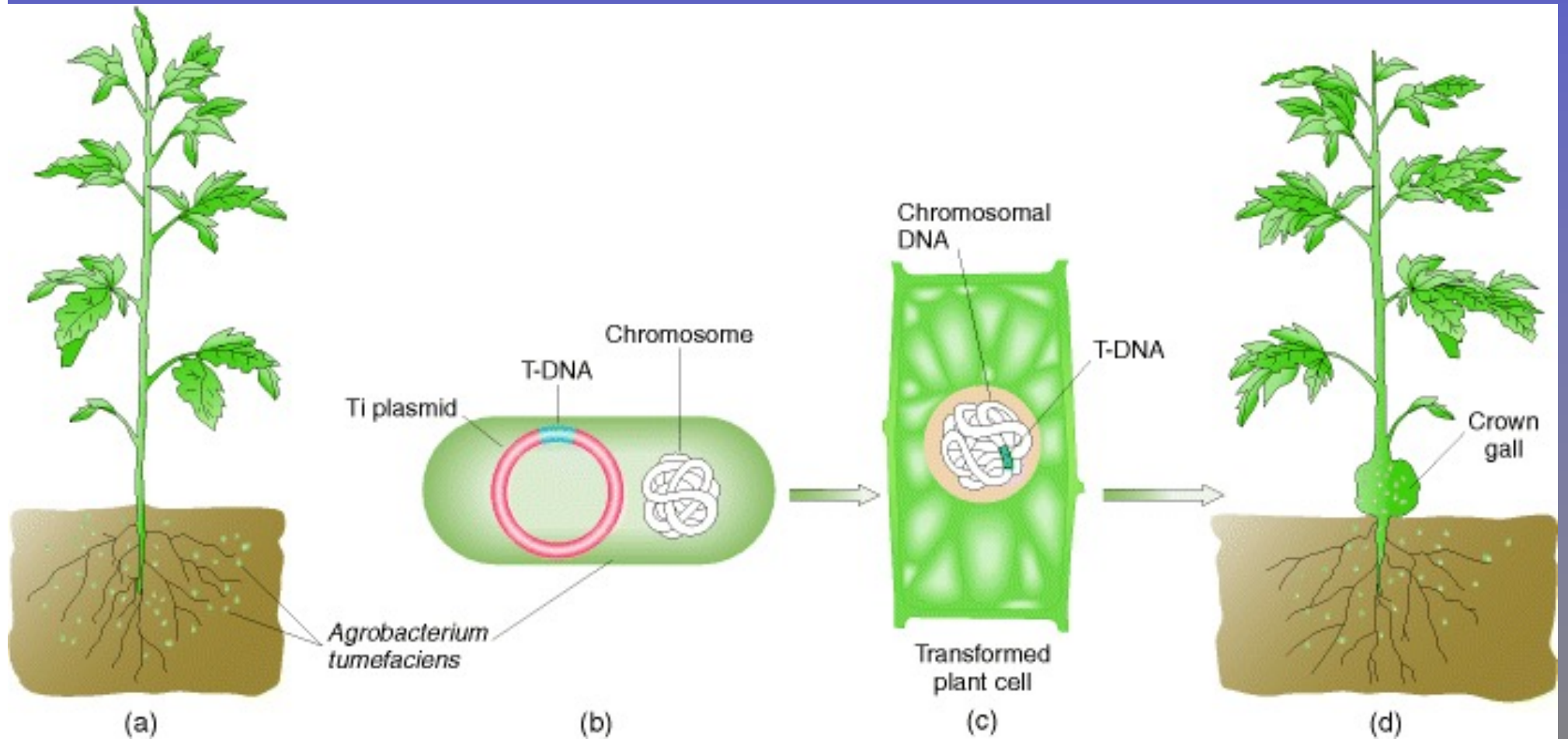
C. *Helicobacter pylori* (*cag* system)

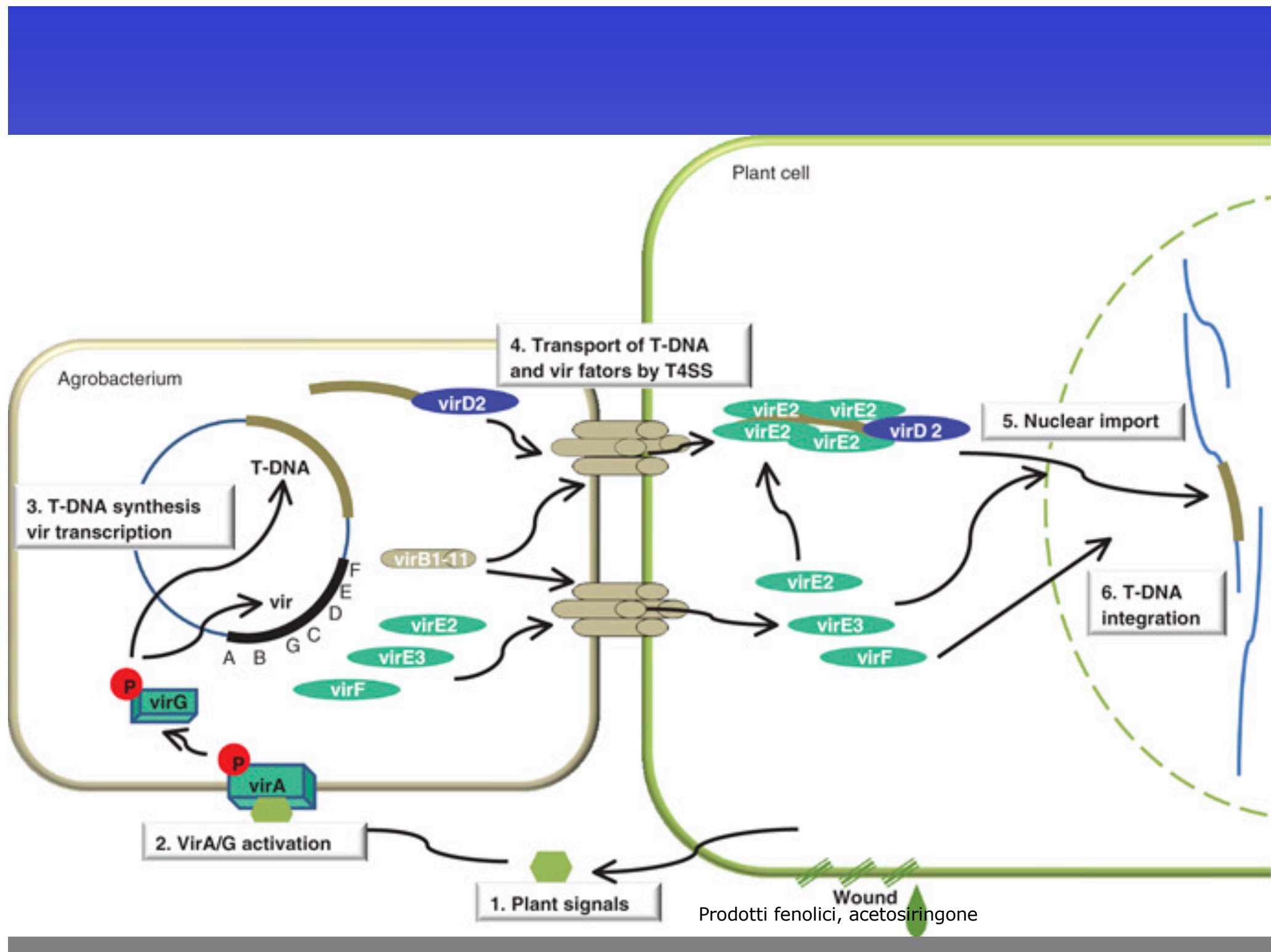


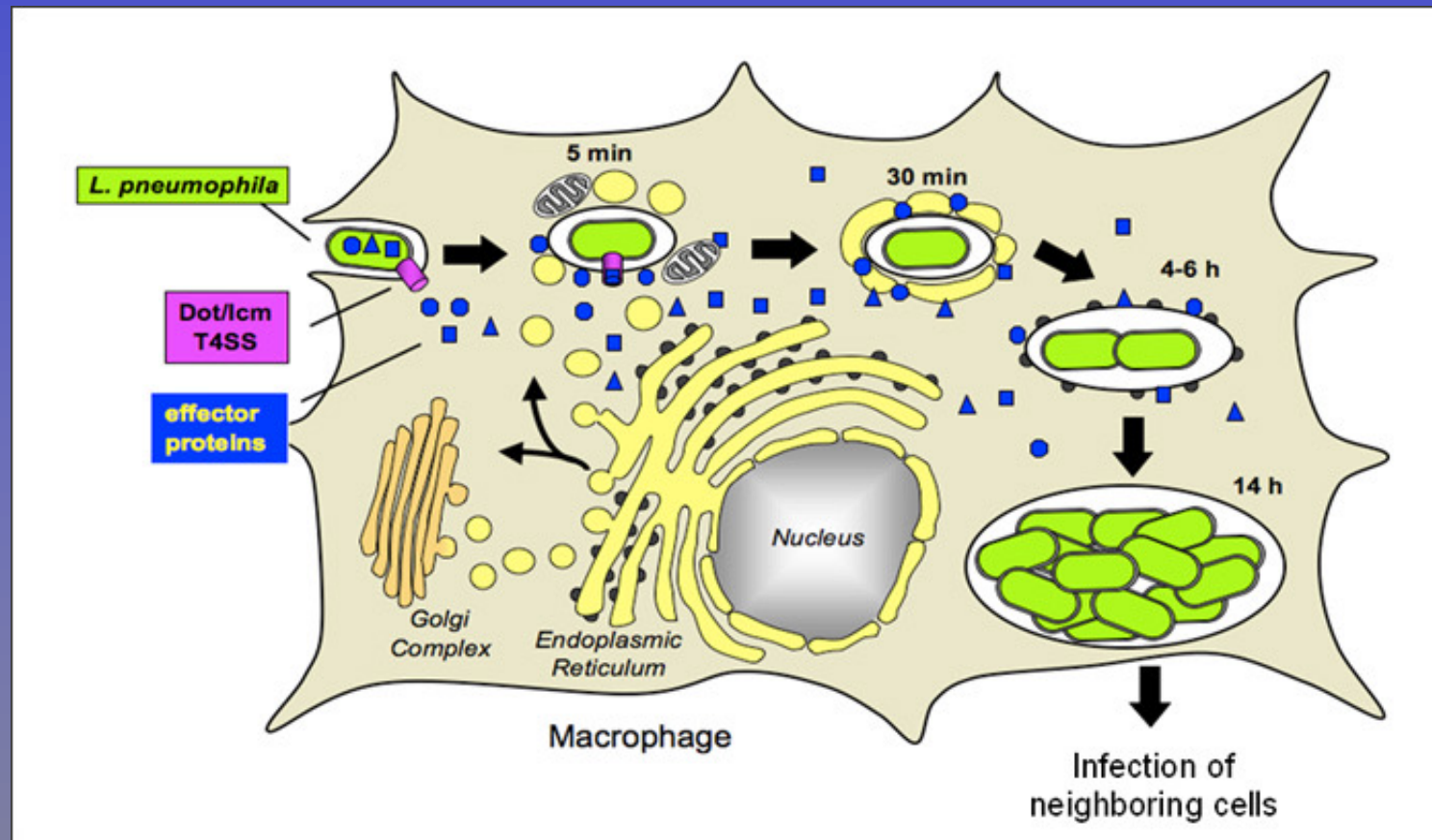
D. *Legionella pneumophila* (*dot/icm* system)

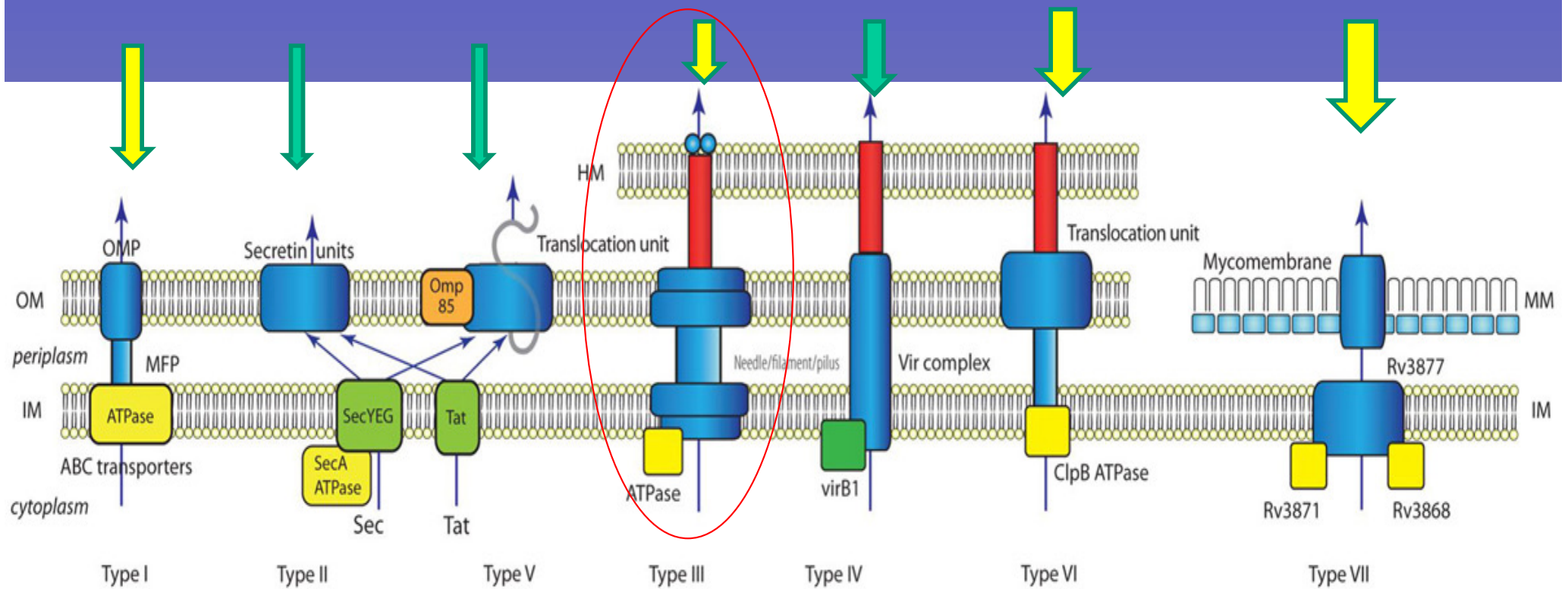


Oggi si sa che sistemi di tipo IV sono presenti anche in un certo numero di batteri non patogeni, come *Caulobacter crescentus*, *Sinorhizobium meliloti*, *Rhizobium etli* e *Thiobacillus ferrooxidans*, anche se le loro funzioni sono ancora sconosciute.









(Tseng et al., 2009)

SISTEMA DI SECREZIONE DI TIPO III

- Distribuito in moltissime specie patogene per l'uomo, gli animali e le piante.
- E' un sistema Sec-indipendente
- Inietta le proteine esportate direttamente all'interno delle cellule target.
- E' finemente regolato dal contatto con la cellula ospite.
- E' estremamente complesso e basato sulla formazione di una struttura simile al flagello.
- Molte proteine sono omologhe a quelle che intervengono nella sintesi del flagello e sono intercambiabili nei vari sistemi

• Patogeni dei mammiferi

- *Yersinia* spp.
- *Salmonella* spp.
- *Chlamydia* spp.
- *Chlamidophyla* spp.
- *Shigella* spp.
- *Pseudomonas aeruginosa*
 - EHEC
 - EPEC
- *Bordetella* spp.
- *Burkholderia* spp.
- *Edwardsella tarda*
- *Citrobacter rodentium*
- *Chromobacterium violaceum*

• Patogeni dei pesci

- *Aeromonas salmonicida*
- *Aeromonas hydrophila*
- *Vibrio parahaemolyticus*
- *Yersinia ruckeri*

• Patogeni delle piante

- *Xanthomonas* spp.
- *Erwinia* spp.
- *Pseudomonas* spp.
- *Ralstonia solanacearum*

• Simbionti

- *Rhizobium* spp.
- *Sodalis glossinidius* (mosca tze-tze *Glossinia*)
- *Sitophilus zeamais*
- *Protochlamydia amoebophila*
- *Photorhabdus luminescens*
(Nematodi)

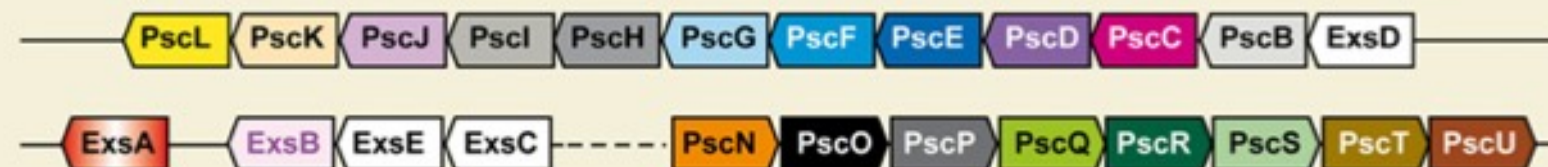
Evoluzione del T3SS (1)

- Il flagello (presente su gram-positivi e gram-negativi) ed il T3SS (presente sui soli gram-negativi) si sono evoluti da un comune antenstore indipendentemente.
- I geni per il flagello sono quasi sempre presenti sul cromosoma e co-evoluti con questo.
- Recenti analisi molecolari suggeriscono che l'antenstore T3SS era deputato al movimento mentre quelli "attuali" hanno perso/acquisito geni da altri sistemi e servono ora al trasporto delle proteine.
- I geni per il T3SS sono quasi sempre portati da DNA alieno e sono molto più simili tra di loro (nelle differenti specie) piuttosto che a quelli del flagello.
- Sono distribuiti indipendentemente dalla filogenia delle specie, ma piuttosto acquisiti orizzontalmente.

Yersinia pestis



P. aeruginosa



Shigella flexneri

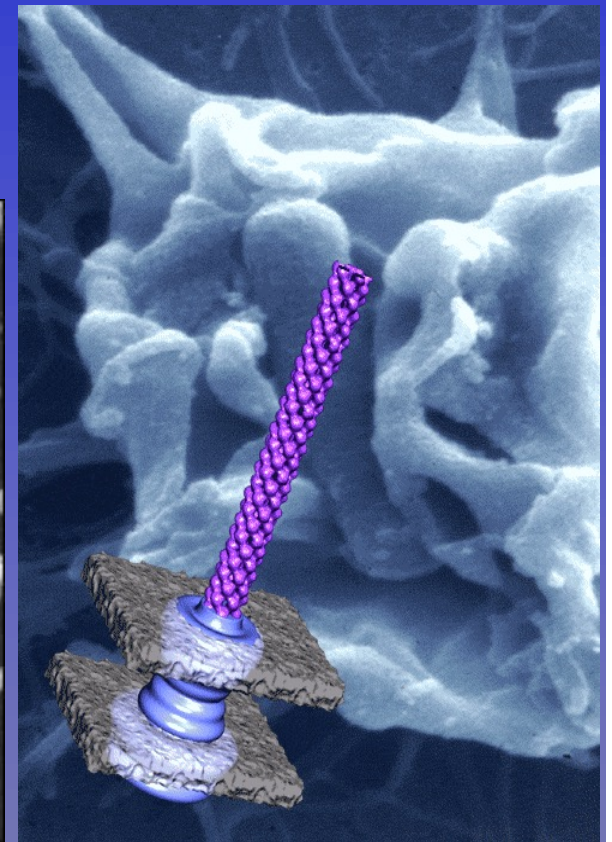
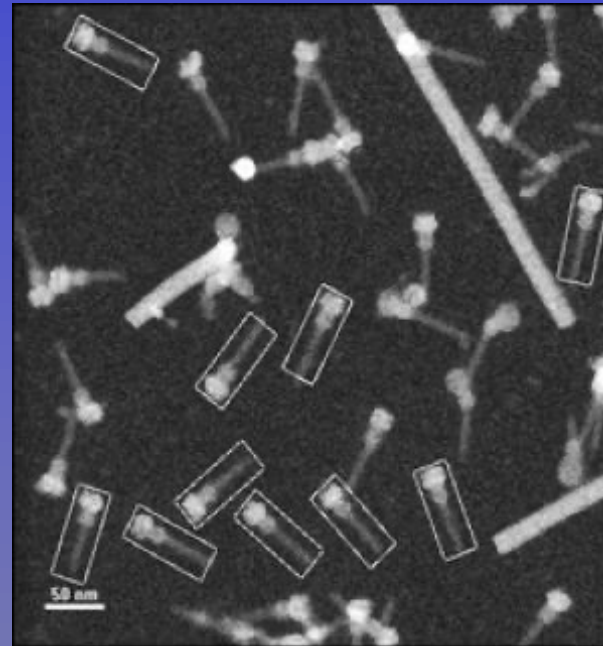
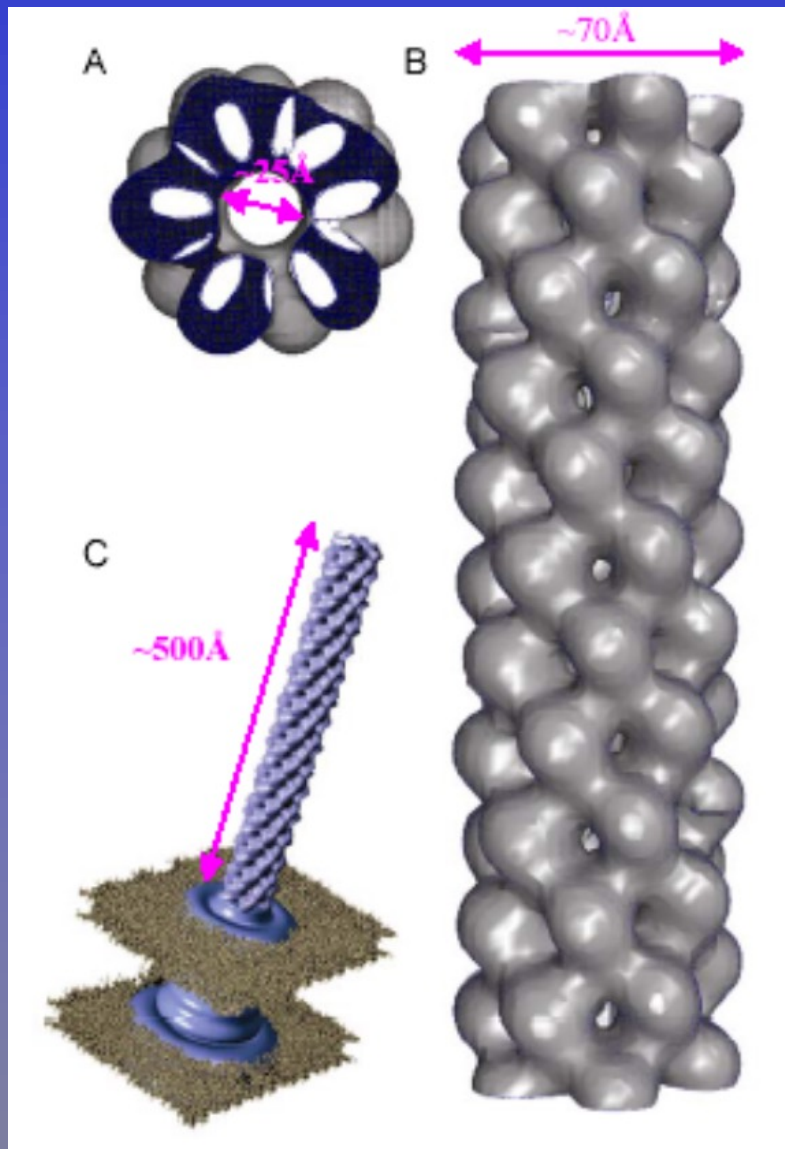


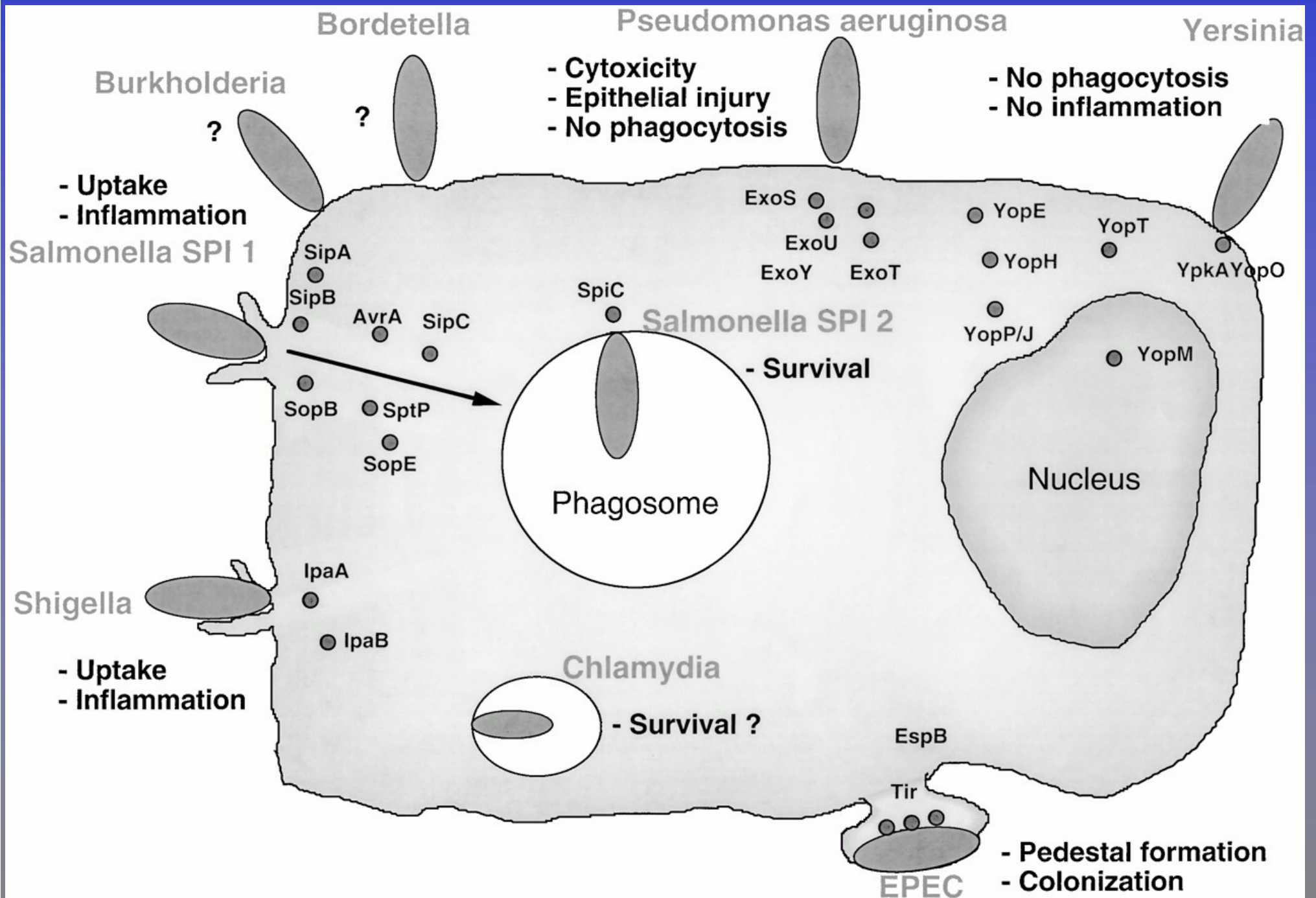
S. typhimurium



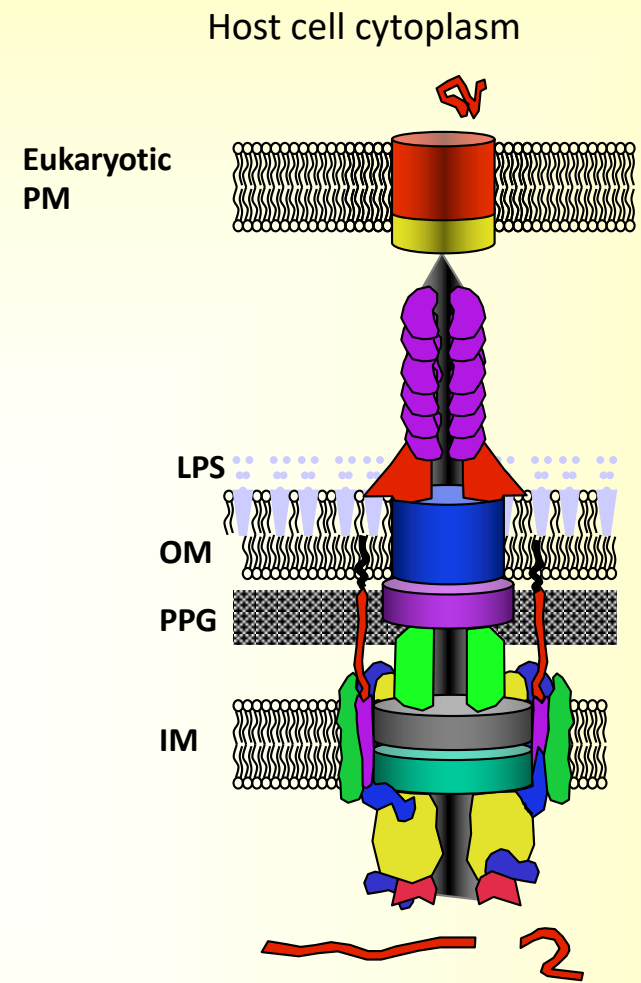
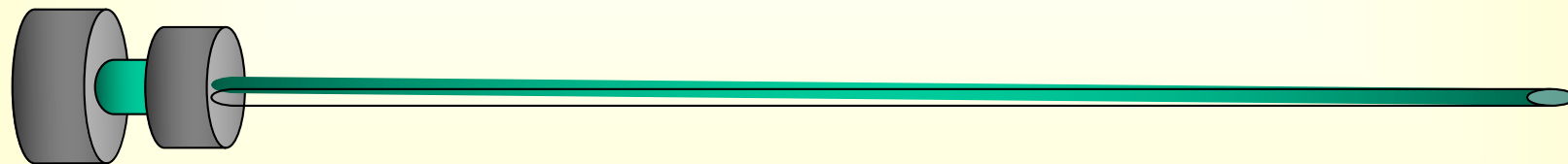
E. coli (EPEC)

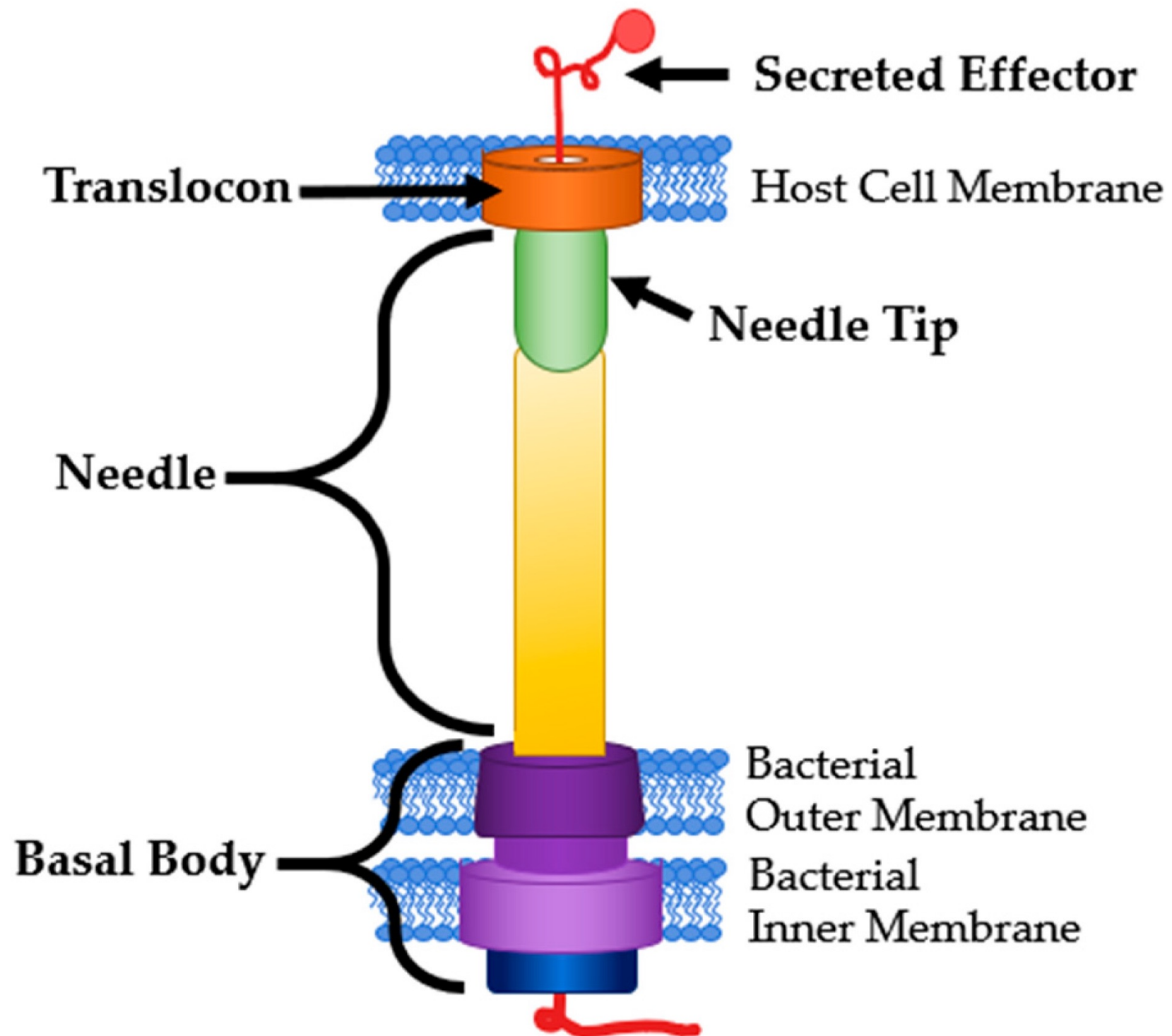


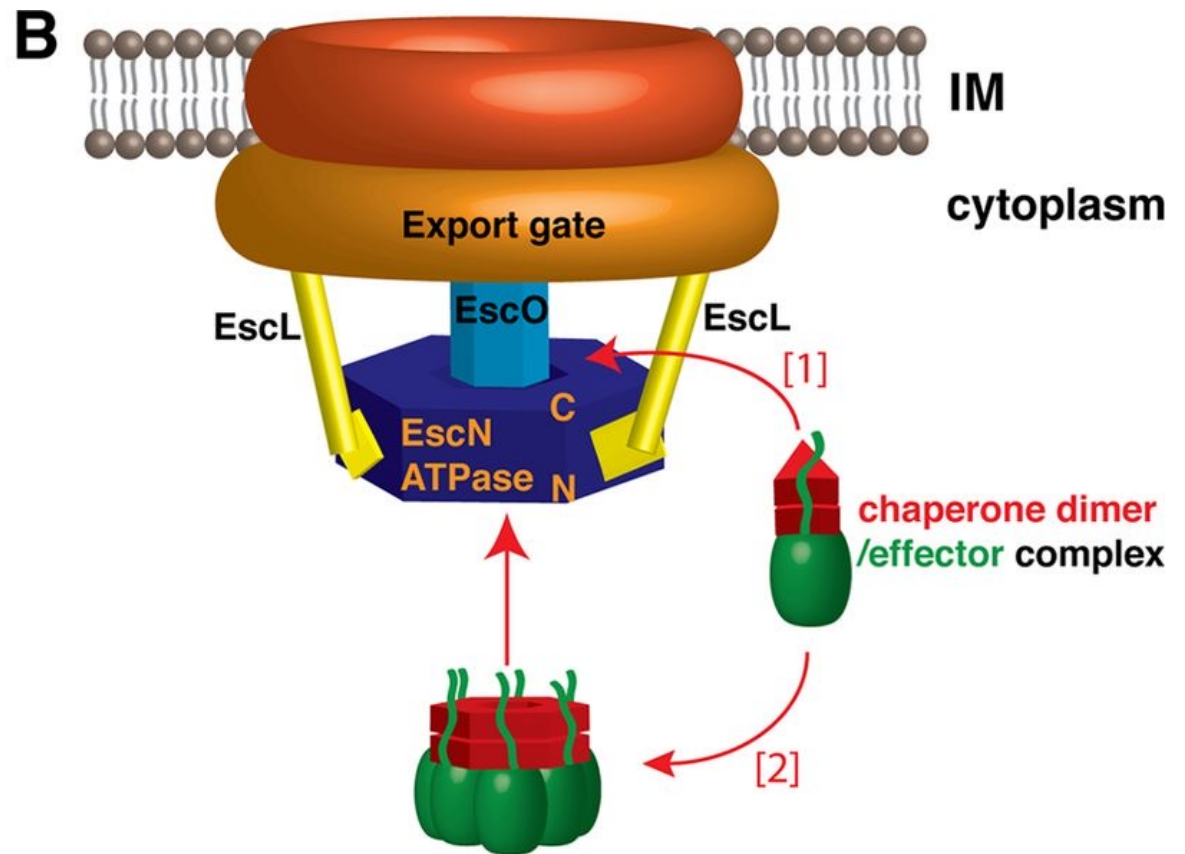
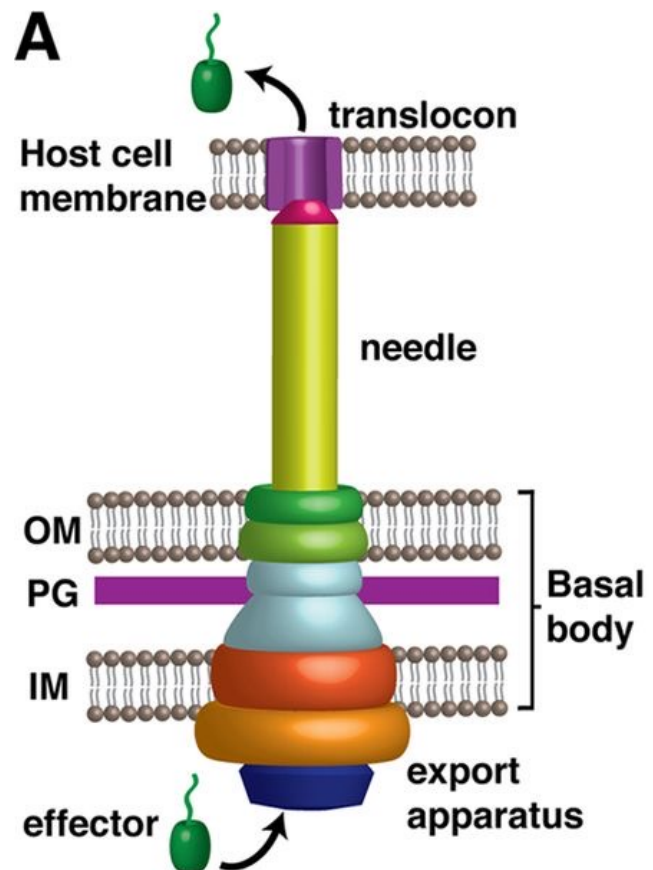




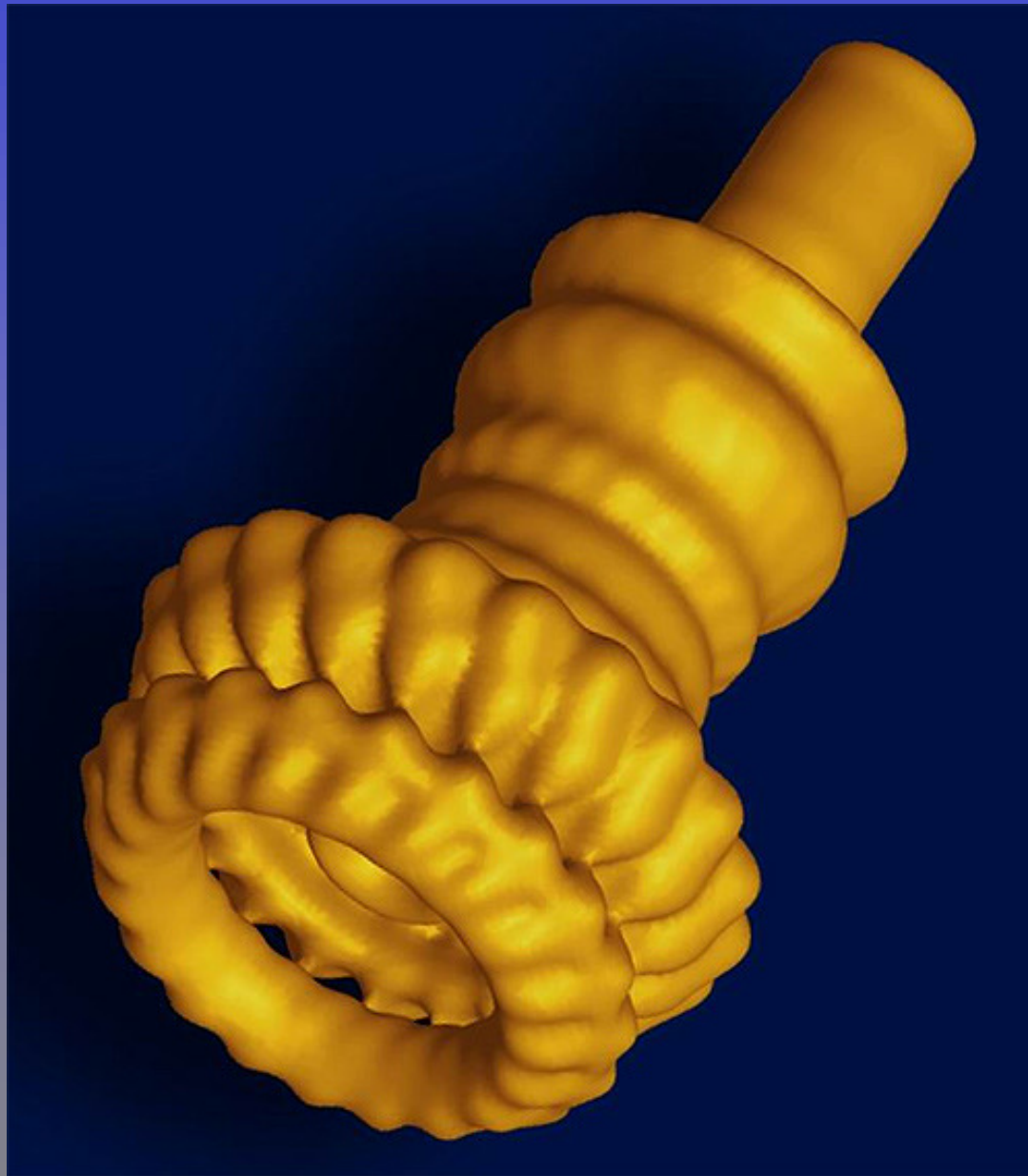
TTSS

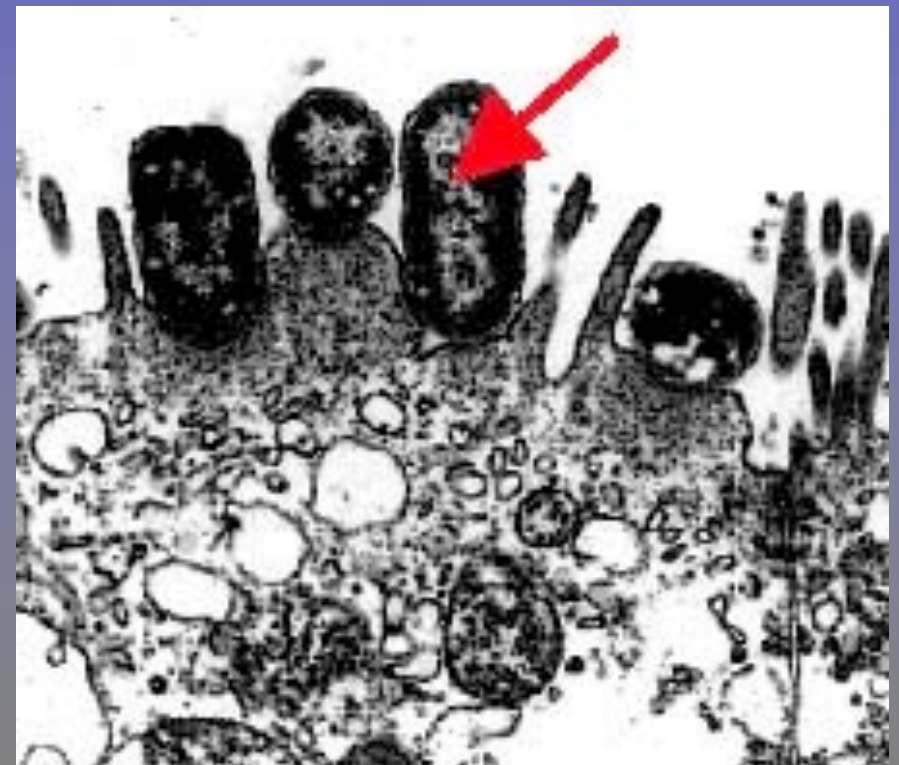
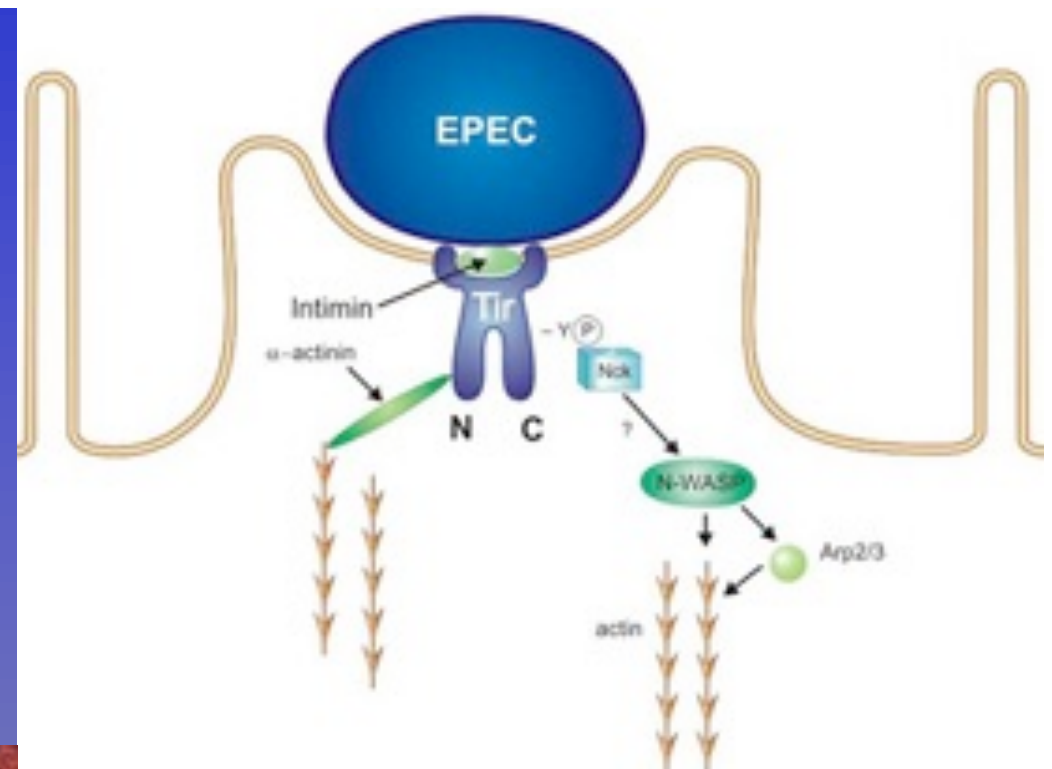
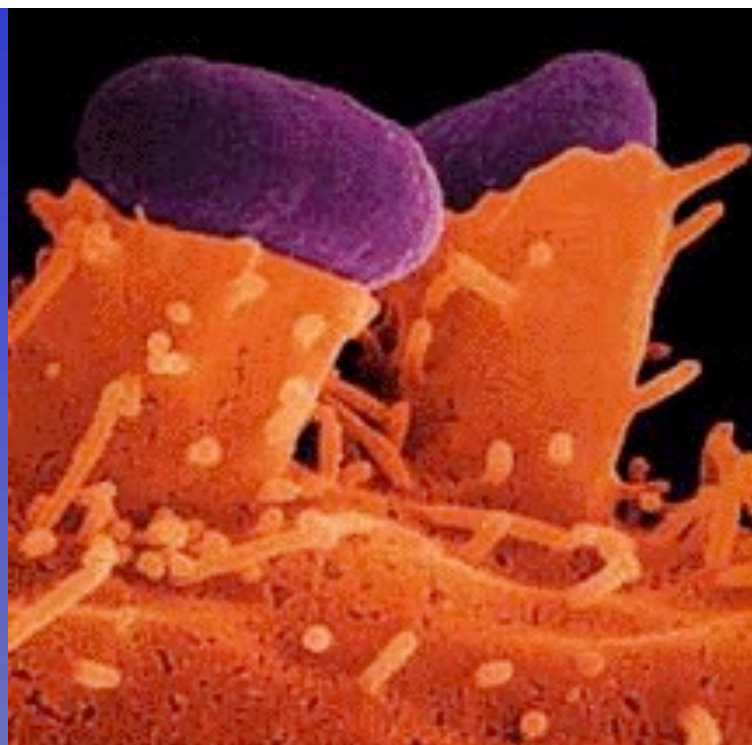




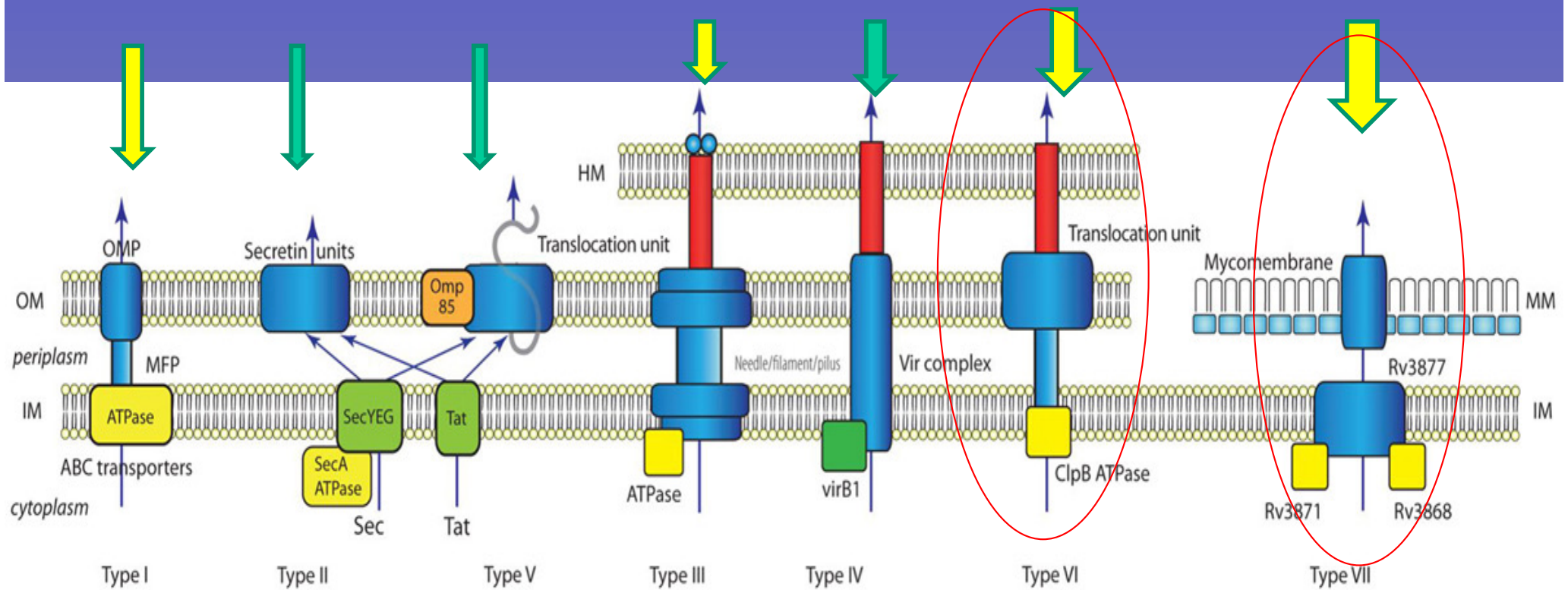


Un modello in 3D

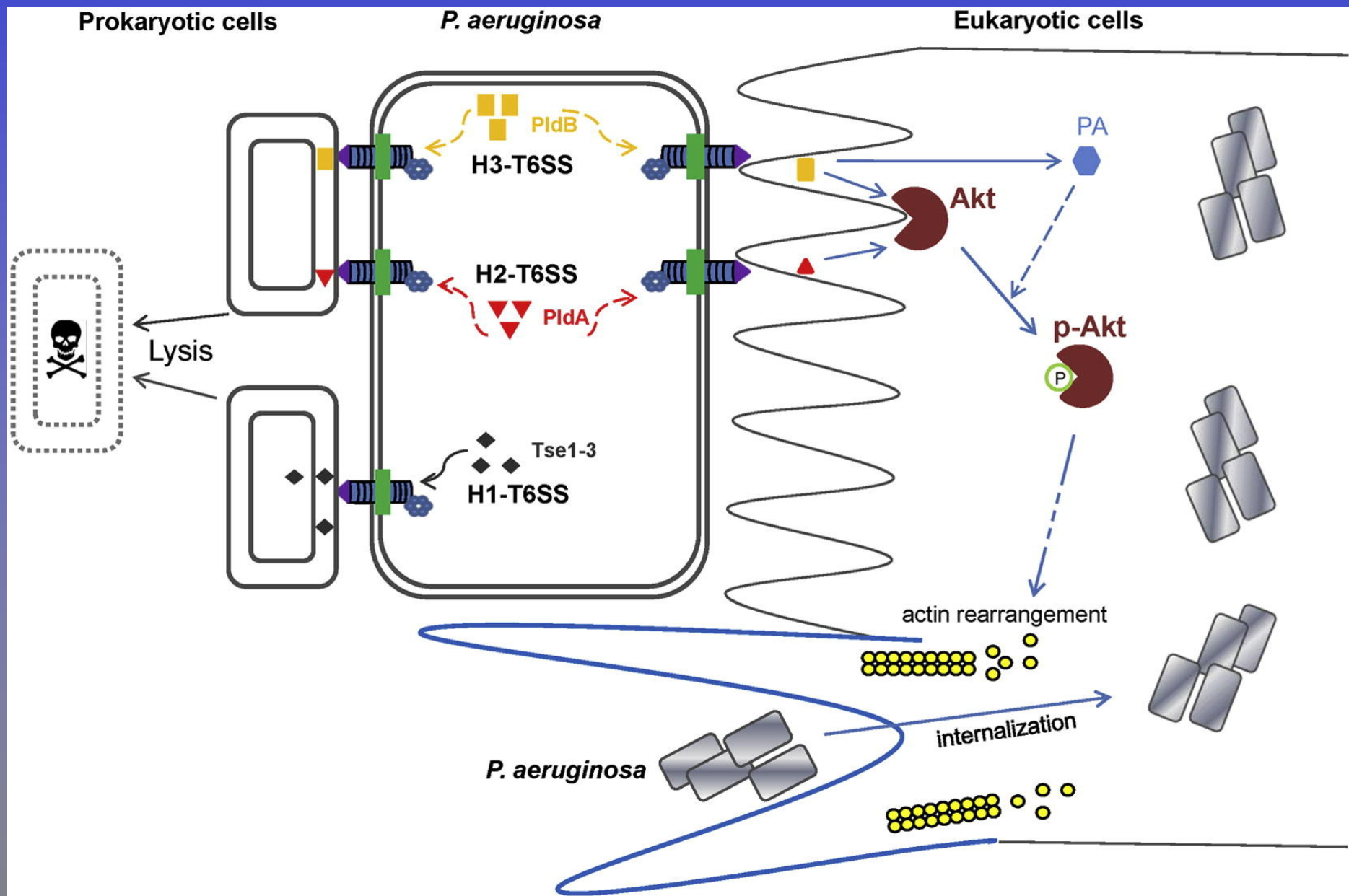




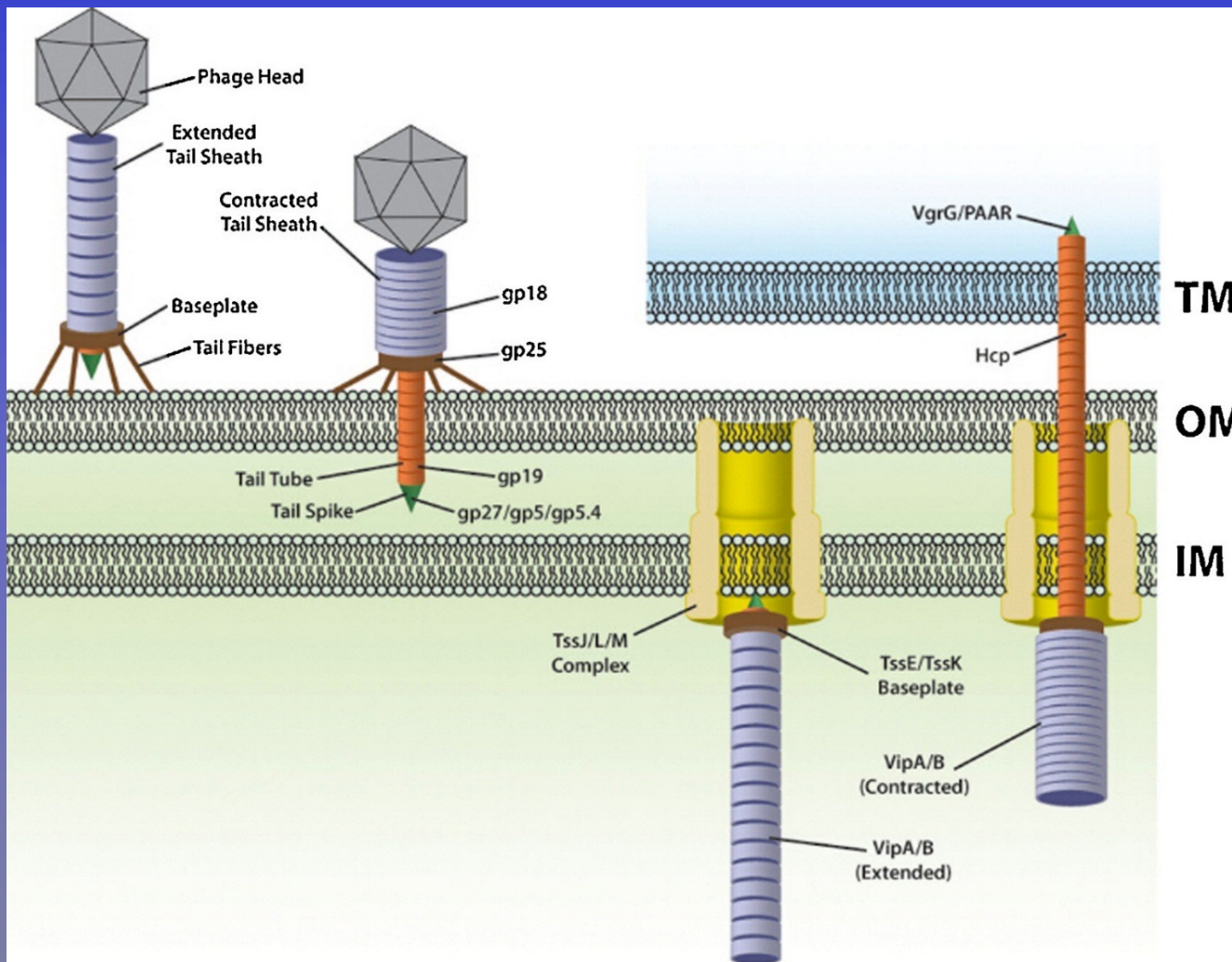
[https://www.youtube.com/watch?v=g
nNFINI9_pT0](https://www.youtube.com/watch?v=g
nNFINI9_pT0)



Il T6SS è un'arma di guerra.....



Il sistema di secrezione di tipo VI

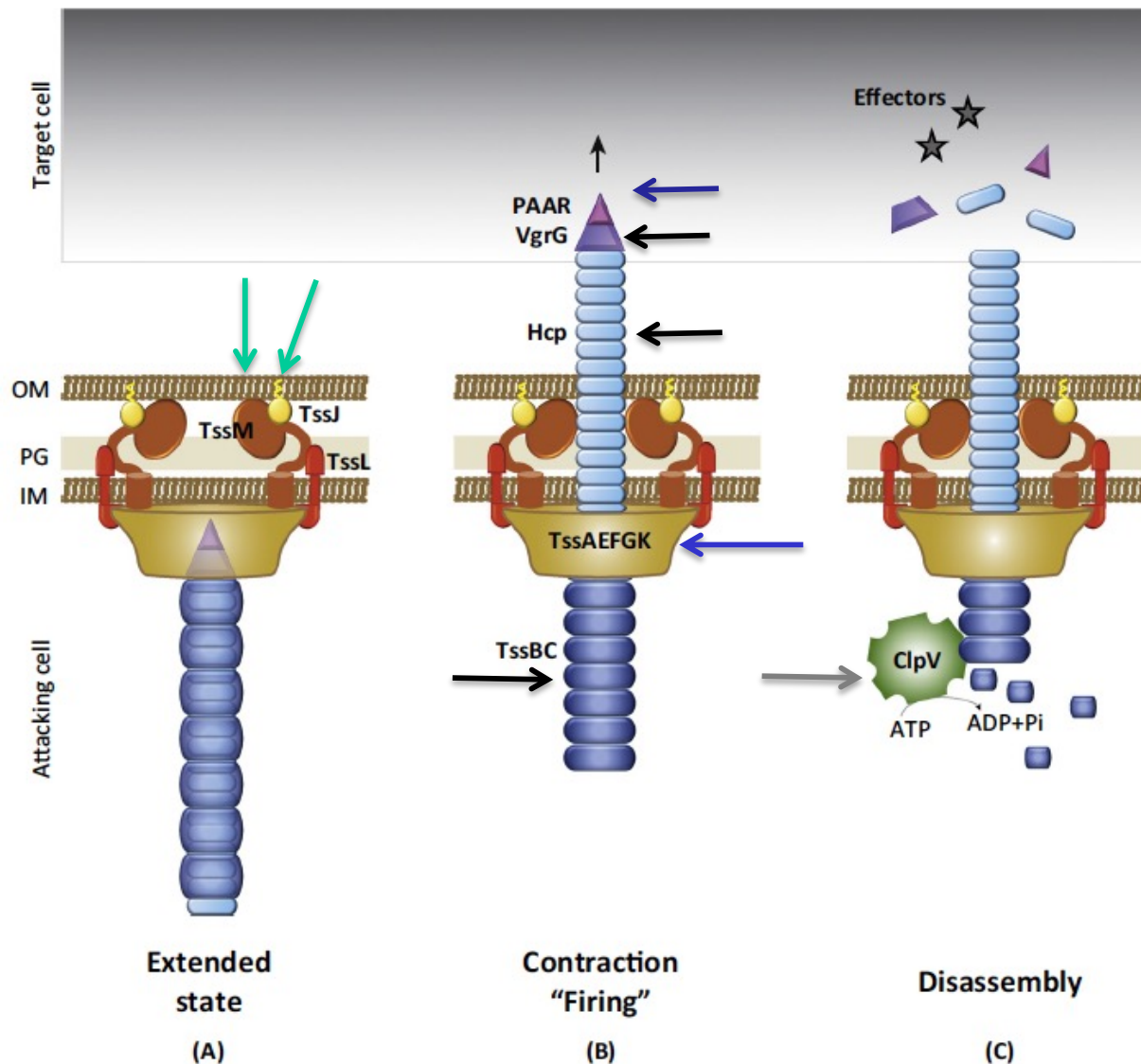


- Il T6SS si compone di 13 componenti chiave, essenziali e conservate e di numerose componenti accessorie. E' molto comune e presente in molti proteobatteri
- Il complesso di coda del T6SS consiste di elementi strutturali che sono equivalenti alla coda contrattile dei fagi: una guaina di coda, una piattaforma basale ed un tubo interno

- L'apparato consiste di due complessi principali: quello di membrana che comprende le proteine di membrana interna, omologhe alle componenti del T4SS, ed un complesso di coda che contiene componenti evolutivamente simili alle code contrattili dei batteriofagi

Key Figure

Schematic Representation of the Structure and Mechanism of the Type VI Secretion System (T6SS)



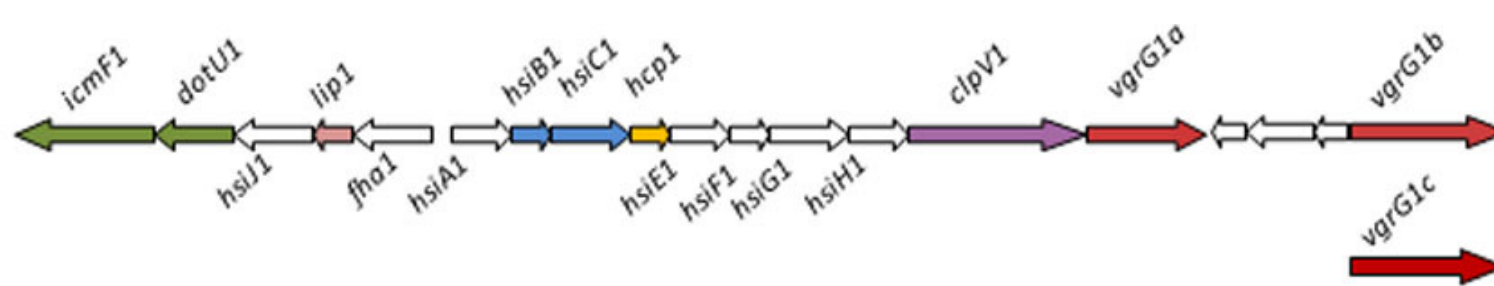
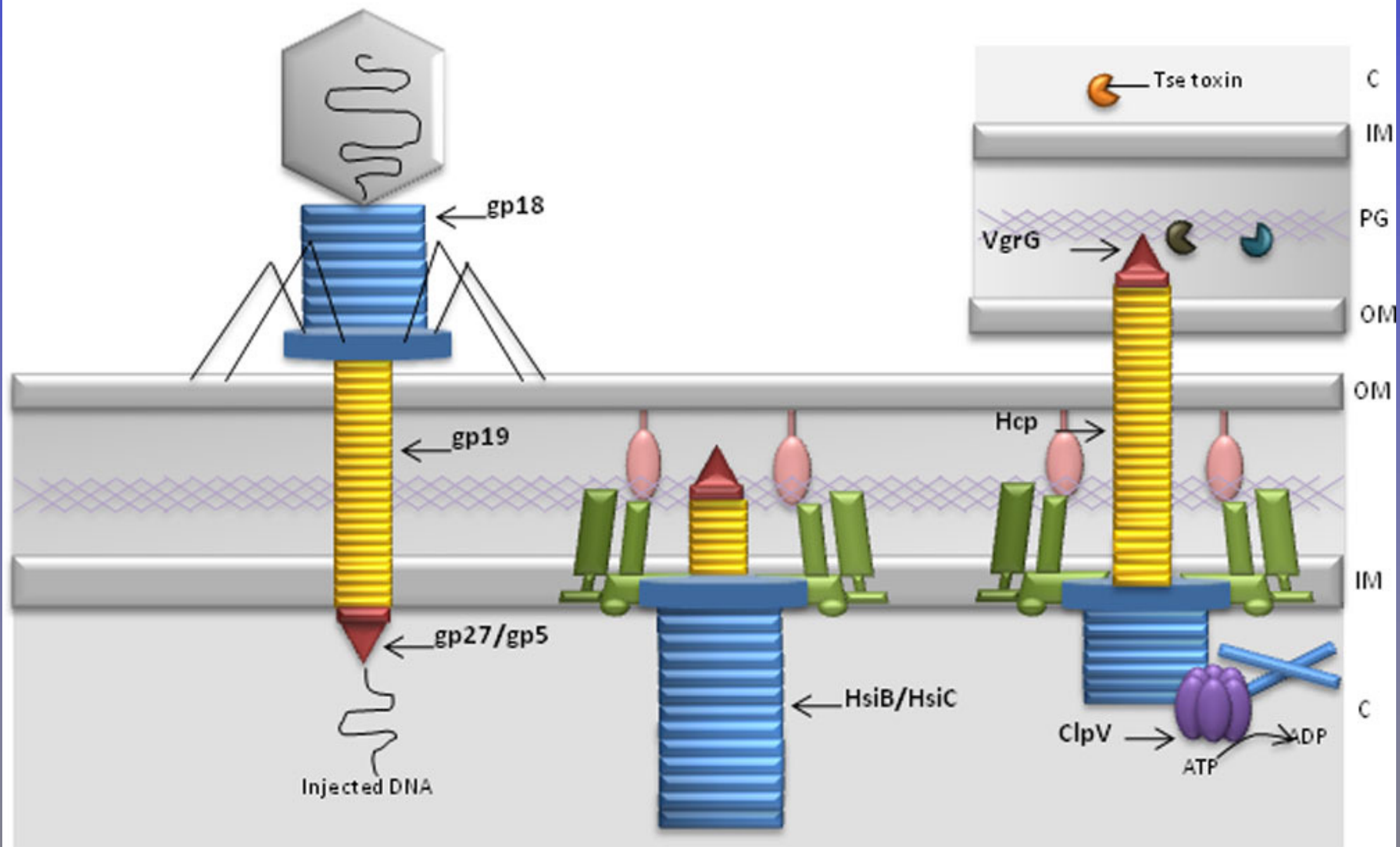
A. TssJ, M ed L sono associate alla membrana interna e vengono considerate il complesso di "attacco" nell'assemblaggio.

TssAEFGK rappresentano la piattaforma associata alla MI.

Al disotto di VgrG si estende una sottile struttura tubulare composta da Hcp, che si organizza in esameri e termina nella "guaina" composto da TssB e C.

B. La contrazione di TssBC determina l'estensione della macchina appuntita che ha all'apice PAAR e VgrG, che ne costituiscono il punteruolo che forerà la membrana della cellula bersaglio.

C. Quando gli effettori sono stati iniettati, la struttura tubulare e lo stelo si disassemblano grazie all'azione dell'ATPasi ClpV

A**B****Bacteriophage****T6SS****Contracted T6SS**

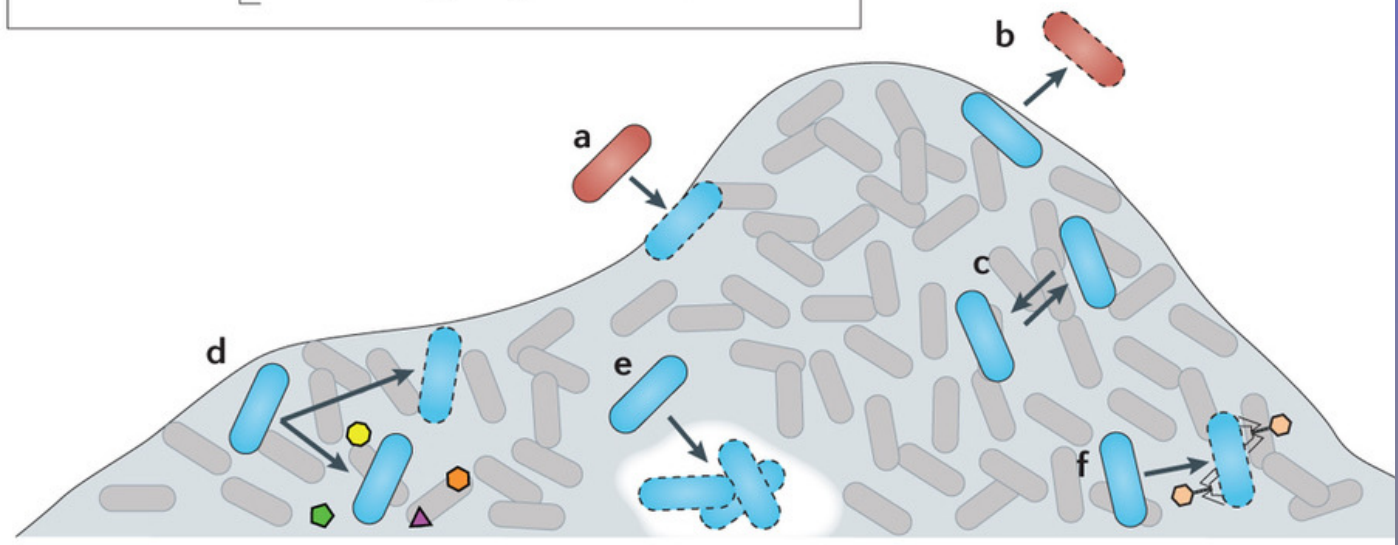
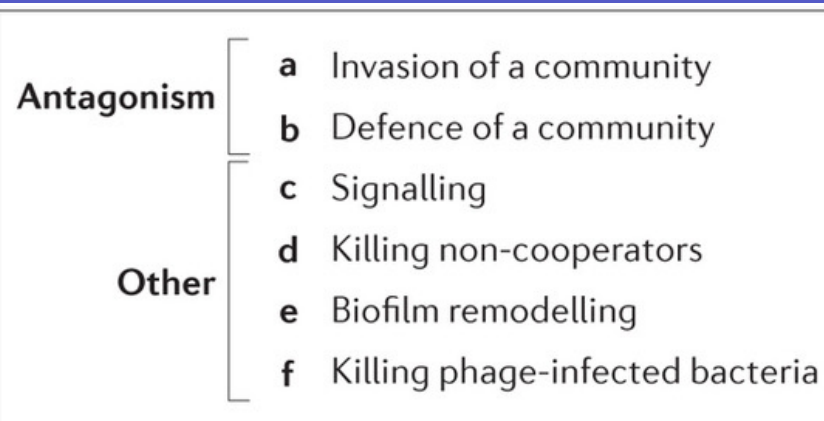
Effettori
antibatterici:
Peptidoglicano
amidasi (Tae) e
glicoside idrolasi
(Tge)

Lipase/esterasi (Tle)

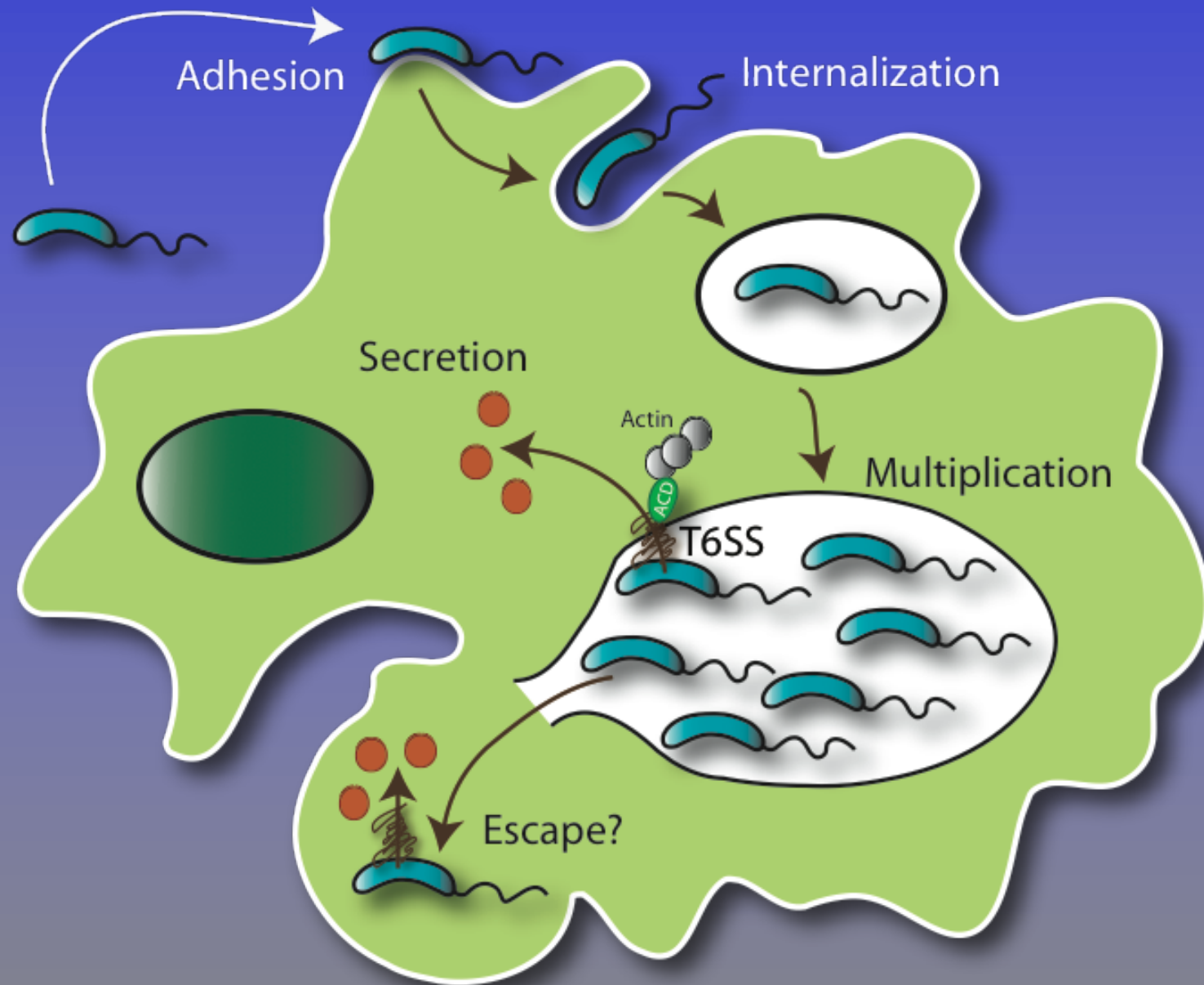
In *P.aeruginosa* le
fosfo diesterasi
PldA e PldB sono
attive sia contro le
cellule

procariotiche che
procariotiche

Effettori anti-
eucariotici
Proteine che
interagiscono con
l'actina e la
tubulina.

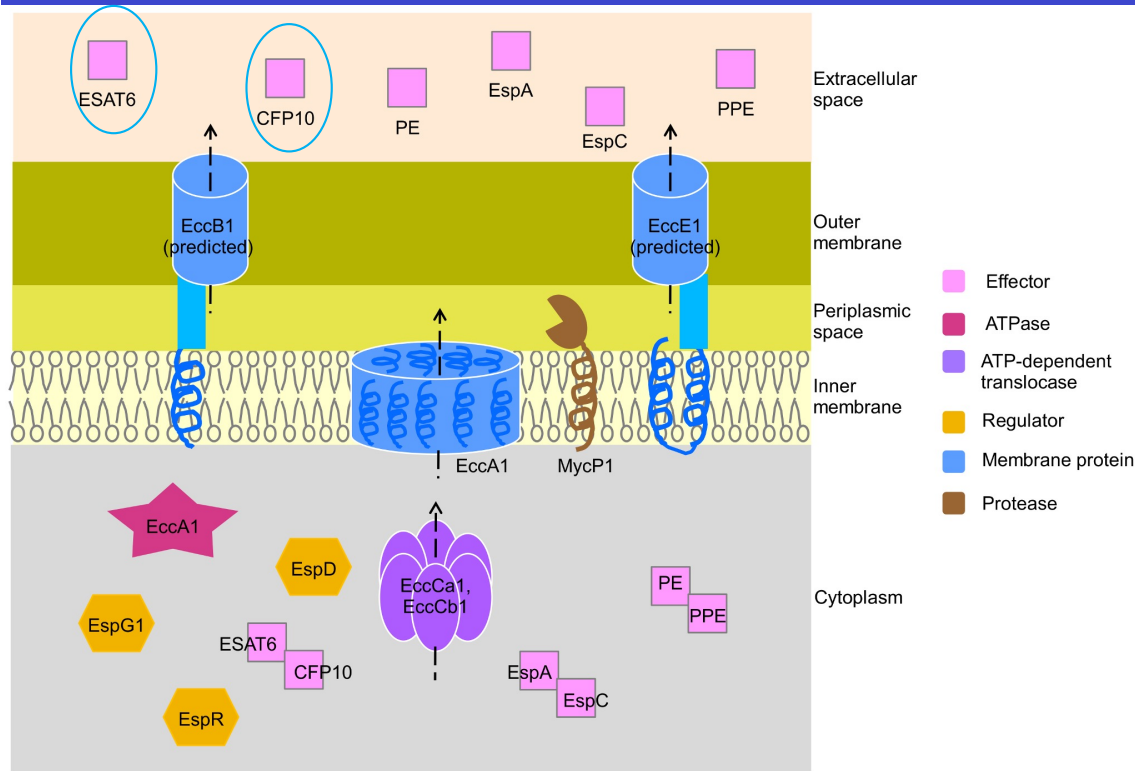


II TVISS in *Vibrio cholerae*

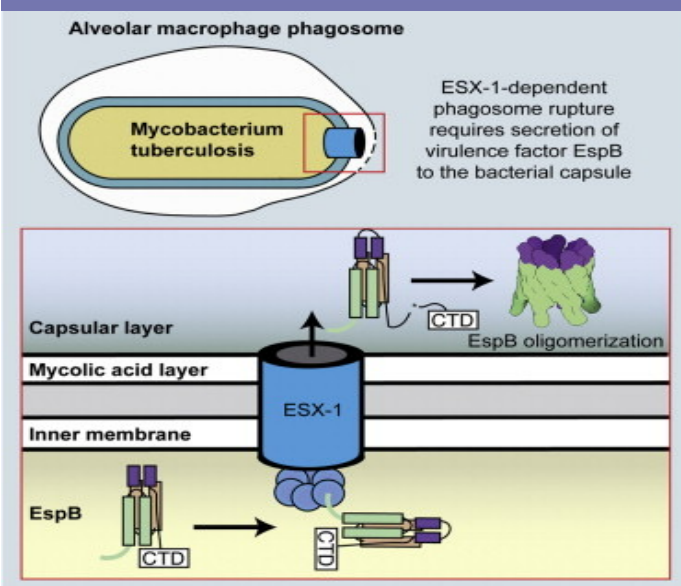


<https://www.youtube.com/watch?v=6TUDN0I7iEU>

Il sistema di secrezione di tipo VII



Schematic representation of proposed Type VII secretion pathway in *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv



- Nel 2003 fu identificato il primo T7SS in *M. tuberculosis* e fu chiamato ESX-1.
- Il sistema ESX-1 è responsabile della secrezione di varie proteine ESX, fra cui ESAT-6 e CFP-10. Queste due proteine, che formano un complesso eterodimerico, sono coinvolte nell'interazione ospite-patogeno.

- Esse inducono una forte risposta immunitaria mediata dai linfociti T, sono apparentemente coinvolte nella lisi della membrana e/o della cellula ospite.
- I *cluster* genici di T7SS sono stati da allora identificati in diversi batteri Gram positivi, come *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* e *Bacillus subtilis*.