



1. UNE BACTÉRIE *LISTERIA*
(en rouge, un micromètre de longueur) se propulse dans une cellule à l'aide d'une comète (en vert) constituée d'actine et d'autres protéines empruntées à la cellule infectée.

vaccin contre la listériose, car quelques précautions suffisent à protéger les sujets à risques : nettoyer souvent le réfrigérateur, laver les fruits et légumes consommés crus, éviter les fromages au lait cru, salaisons et produits fumés.

La faculté qu'a ce microbe de traverser différentes barrières de l'organisme, comme la paroi du tube digestif, le placenta ou les enveloppes protectrices du cerveau, est liée à son aptitude à pénétrer dans les cellules de l'organisme qu'elle infecte, y survivre et s'y multiplier. Toutes les bactéries pathogènes n'en sont pas capables. Certaines ne traversent même pas les muqueuses. La plupart, enfin, ne pénètrent pas dans les cellules.

Les propriétés de *Listeria* sont dues à une vaste panoplie d'outils moléculaires, acquis au cours de l'évolution, qui lui permettent de détourner à son avantage de nombreuses fonctions cellulaires. Nos recherches s'attachent à élucider les stratégies déployées par *Listeria* pour prendre d'assaut la cellule. Nous espérons ainsi

non seulement comprendre les bases de la pathologie et les contrer, mais aussi améliorer nos connaissances fondamentales sur le fonctionnement des cellules de mammifère. Nous décrivons ici l'étonnant arsenal mis en œuvre par *Listeria monocytogenes* de son entrée dans la cellule à son passage dans une cellule voisine.

Deux clefs pour entrer dans la cellule

L'entrée de la bactérie dans les cellules met en jeu des interactions spécifiques de deux protéines de la surface bactérienne, les internalines InlA et InlB, et leurs récepteurs respectifs à la surface des cellules hôtes : la E-cadhérine et c-Met (voir l'encadré page 44). En l'absence d'infection, ces deux protéines humaines ont des fonctions bien précises. La E-cadhérine crée des jonctions entre cellules recouvrant les muqueuses. La protéine c-Met est le récepteur naturel d'un facteur de croissance, HGF, qui stimule la multiplication des cellules et leur mobilité.

Lorsqu'elles entrent en contact avec la E-cadhérine et c-Met, les internalines InlA et InlB activent et détournent les fonctions cellulaires normales de ces protéines. Leur liaison déclenche dans la cellule des voies de signalisation en cascade qui aboutissent au recrutement, à proximité de la zone de contact entre la bactérie et la cellule, de protéines du cytosquelette – un réseau de filaments qui participent au maintien de l'architecture des cellules (voir l'encadré page 46). L'agencement de ces protéines crée des forces qui déforment la membrane cellulaire à proximité de la bactérie : des forces de propulsion projettent des extensions de membrane autour de la bactérie, tandis que des forces de traction entraînent la bactérie vers l'intérieur de la cellule.

Parmi les différentes protéines du cytosquelette impliquées dans l'entrée, l'actine s'organise en polymères qui s'allongent à une extrémité ou se raccourcissent à l'autre. Des moteurs moléculaires, les myosines, font glisser les câbles, ce qui

LES AUTEURS



Alice LEBRETON est chargée de recherche de l'Institut national de la recherche agronomique (INRA).

Hélène BIERNE est directrice de recherche du même Institut.

Elles travaillent au sein de l'Unité des interactions bactéries-cellules, à l'Institut Pasteur (Paris), dirigée par Pascale COSSART.

engendre des forces de traction ou de propulsion entre deux points d'ancrage du réseau. Le cytosquelette étant relié à la membrane, celle-ci s'invagine peu à peu sous l'effet de ces forces, entraînant avec elle la bactérie vers l'intérieur de la cellule. *Listeria* se retrouve englobée dans des extensions membranaires qui se referment, donnant naissance à une vacuole au cœur de la cellule.

Des pores pour déstabiliser la cellule

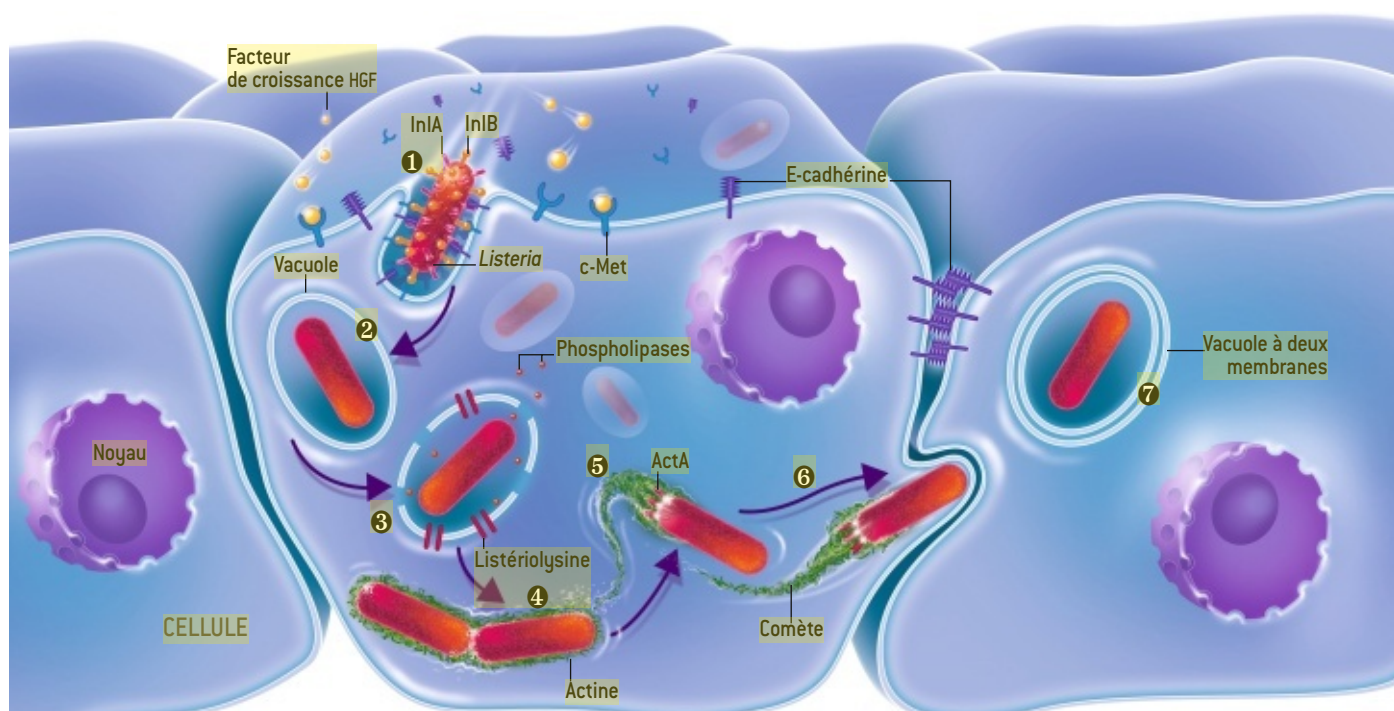
Contrairement à la plupart des autres bactéries pénétrant dans les cellules, *Listeria monocytogenes* ne reste pas dans cette vacuole. Elle sécrète plusieurs protéines qui déstabilisent la structure des membranes : la listériolysine et les phospholipases. La listériolysine perce la membrane de la vacuole : plusieurs molécules s'insèrent dans la membrane et s'associent en anneaux, formant des pores par lesquels circulent de nombreux constituants cellu-

lares, ce qui modifie localement l'acidité et la salinité. Quant aux phospholipases, ce sont des enzymes qui dégradent les constituants de la membrane. Sous l'action conjointe de ces protéines, la vacuole est dégradée et la bactérie s'échappe vers le cytoplasme – l'intérieur de la cellule.

La capacité de *Listeria* à sortir de la vacuole est un atout crucial qui lui évite d'être éliminée par les défenses de l'hôte. Cela est particulièrement critique dans les macrophages, des cellules immunitaires qui reconnaissent les agents étrangers, les capturent et les ingèrent au sein d'une vacuole nommée phagosome : c'est la phagocytose. Le phagosome formé fusionne avec des compartiments cellulaires acides – les lysosomes –, lesquels contiennent des enzymes qui dégradent le contenu vacuolaire. *Listeria* échappe à cette dégradation en bloquant la fusion entre phagosome et lysosome et en rompant la membrane de la vacuole.

La listériolysine, considérée comme le facteur de virulence majeur de *Listeria*,

LE CYCLE CELLULAIRE DE *LISTERIA*



Listeria pénètre dans la cellule grâce à l'interaction des internalines InlA et InlB, à sa surface, et de leurs récepteurs respectifs sur la membrane cellulaire, E-cadhérine et c-Met (1). La bactérie est ensuite ingérée par invagination de la membrane, qui se referme et forme une vacuole (2). *Listeria* dégrade

la membrane de la vacuole grâce aux enzymes phospholipases et aux pores membranaires créés par la listériolysine (3). Dans le cytoplasme, *Listeria* se multiplie en utilisant les ressources énergétiques de la cellule (4). La protéine ActA permet à la bactérie de se déplacer, car elle stimule la polymérisation

de l'actine à une extrémité (5). Les filaments d'actine forment une comète qui propulse la bactérie vers les cellules voisines, où un nouveau cycle commence (6) dans des vacuoles à deux membranes (7). Les clichés de microscopie électronique ci-contre illustrent ces différentes étapes.

joue un rôle clef dans ce processus. En formant des pores dans les membranes, elle permet l'entrée d'ions calcium, lesquels inhibent une protéine de la membrane des lysosomes (LAMP1), retardant ainsi la fusion avec le phagosome. Dans l'intervalle, la bactérie s'échappe vers le cytoplasme.

Ce ne sont pas les seuls rôles de la listériolysine. Synthétisée par *Listeria* avant même son entrée dans la cellule, cette toxine plurifonctionnelle a de nombreux autres effets sur la physiologie cellulaire. Par exemple, les pores qu'elle ouvre dans la membrane de la cellule permettent l'entrée d'ions calcium vers le cytoplasme, et la sortie d'ions potassium. L'augmentation de la concentration de calcium dans la cellule a des conséquences diverses. Par exemple, elle facilite l'entrée des bactéries dans la cellule. En perturbant la forme et la fonction des mitochondries, elle conduit aussi à une interruption, brutale mais transitoire, de la production d'énergie cellulaire. Simultanément, la diminution de la concentration en potassium modifie les

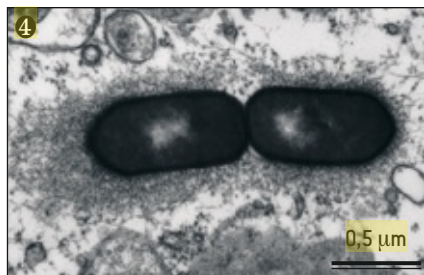
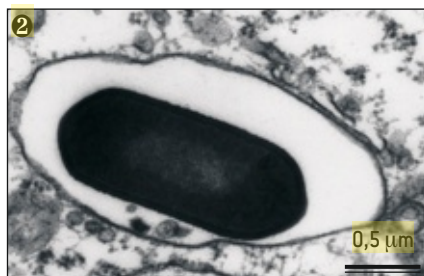
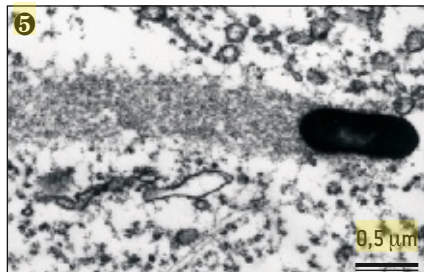
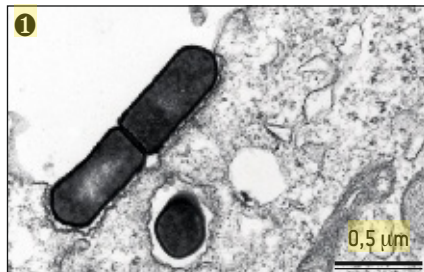
programmes d'expression des gènes de la cellule hôte (nous y reviendrons).

Enfin, certains effets de la listériolysine sont indépendants des flux d'ions. Dans des cellules non infectées, une petite protéine, nommée SUMO, est greffée sur de nombreuses protéines de la cellule ; cette modification – ou sumoylation – perturbe la localisation de certaines protéines, leur capacité à interagir avec leurs partenaires, ou leur stabilité. Lors de l'infection, la listériolysine déclenche la dégradation de l'enzyme responsable de la sumoylation des protéines cellulaires, entraînant une « désomoylation » générale des protéines de l'hôte, susceptible d'altérer leur fonction.

Revenons au cycle de *Listeria* dans la cellule. Une fois dans le cytoplasme, libérée de la vacuole membranaire, la bactérie est exposée à des conditions environnementales très différentes de celles rencontrées à l'extérieur. Elle s'y adapte en changeant le programme d'expression de ses gènes. Elle se met à produire (ou surproduire) la

Glossaire

- ✓ **CYTOPLASME** : ensemble du contenu d'une cellule, à l'exception du noyau.
- ✓ **NOYAU** : organe central de la cellule, contenant les chromosomes porteurs de l'information génétique sous forme d'ADN.
- ✓ **TOXINE** : substance biologique dotée d'un pouvoir pathogène.
- ✓ **FACTEURS DE VIRULENCE** : molécules produites par un pathogène, qui lui donnent un avantage à l'une des étapes du cycle infectieux. La production de ces facteurs est régulée en fonction des conditions environnementales, et s'ajuste ainsi aux besoins de la bactérie.
- ✓ **LYMPHOCYTES T CYTOTOXIQUES** : cellules immunitaires qui reconnaissent et détruisent spécifiquement les cellules infectées par un pathogène. Ils gardent en mémoire les caractéristiques du pathogène rencontré, permettant une réponse plus rapide et efficace en cas de nouvelle infection.



C. Kocks - Institut Pasteur

La bactérie *Listeria* détourne des éléments du squelette interne de la cellule, nommé cytosquelette, à deux étapes de son cycle intracellulaire : pour entrer dans la cellule et pour s'y déplacer. Le cytosquelette est un réseau de filaments protéiques qui confèrent à la cellule sa forme et sa capacité à se mouvoir et à se diviser. Ces filaments s'assemblent et se séparent de façon dynamique, gouvernant les déformations de la membrane de la cellule et les mouvements intracellulaires. Le cytosquelette est ainsi une sorte d'échafaudage, qui crée une rigidité tout en participant au transport de divers constituants, tels des enzymes, des vésicules ou des chromosomes, et à leur positionnement dans le cytoplasme. Voici le rôle de quelques composants du cytosquelette – l'actine, la myosine, les septines et la clathrine –, et la façon dont *Listeria* les utilise.

L'actine est une petite protéine globulaire qui forme des filaments par polymérisation. L'élongation, la

stabilité et l'organisation spatiale des filaments sont régulaées par un ensemble de protéines associées à l'actine. Par exemple, le complexe protéique Arp2/3 déclenche la polymérisation de l'actine et permet l'assemblage des filaments en réseau. À l'inverse, la cofiline stimule la dépolymérisation de ces filaments.

Listeria utilise la force de propulsion produite par la polymérisation/dépolymérisation de l'actine aussi bien pour entrer dans une cellule que pour s'y déplacer. En activant les récepteurs E-cadhérine et c-Met à la surface des cellules, elle déclenche le recrutement séquentiel du complexe Arp2/3 et de la cofiline, ainsi que d'autres régulateurs de l'actine, ce qui pousse la membrane cellulaire au site d'entrée de la bactérie.

Une fois libérée dans le cytoplasme, *Listeria* utilise la protéine ActA pour recruter le complexe Arp2/3 et déclencher la polymérisation de l'actine à l'une de ses extrémités. Ce faisceau de filaments

d'actine constitue une comète, qui propulse la bactérie en s'allongeant d'un côté et en se désorganisant de l'autre, sous l'action de la cofiline.

La force de propulsion créée par la polymérisation de l'actine est souvent couplée à une force de traction engendrée par des protéines motrices, les myosines. Ces protéines convertissent l'énergie chimique produite par la cellule en force mécanique grâce à des changements de conformation. *Listeria* utilise cette force pour entrer dans une cellule : lors de l'activation des récepteurs E-cadhérine et c-Met, des myosines sont recrutées au site d'entrée de la bactérie et contribuent à la déformation de la membrane cellulaire, la tirant le long de la bactérie comme une couverture en prenant appui sur les filaments d'actine.

D'autres protéines, les septines, s'organisent également en filaments entourant la bactérie lors de son entrée dans la cellule. Ces filaments forment des anneaux, dont le rôle reste incompris.

Enfin, la clathrine favorise l'entrée de la bactérie dans la cellule. Cette protéine, qui s'assemble en une structure grillagée formant une cage sphérique, tapisse les vésicules produites par endocytose. Ce processus permet à la cellule d'ingérer des molécules extracellulaires ou de recycler ses constituants membranaires : la membrane cellulaire s'incurve en formant de petites vésicules dans le cytoplasme.

En raison du diamètre réduit des cages de clathrine, on a longtemps pensé que la protéine n'était impliquée que dans l'endocytose de vésicules de petite taille ; cependant, l'étude du mécanisme d'entrée de *Listeria* et de certains virus dans les cellules a montré que la clathrine participe aussi à l'ingestion d'objets de dimensions plus importantes, telles les bactéries. Sous la membrane de la vacuole se formant autour de *Listeria*, la clathrine semble s'agencer en plusieurs cages connectées au cytosquelette.

