

MECANISMO DE PATOGENICIDADE - SISTEMAS DE SECREÇÃO BACTERIANA

Cristiane R. Guzzo

São Paulo, 22 de Setembro de 2022

Sistemas secretórios

- Nano máquinas proteicas que estão envolvidos na translocação ou secreção de efetores pelo envoltório celular:
 - Proteínas (podem ser toxinas);
 - moléculas químicas (bomba de efluxo);
 - DNA-proteína (conjugação);
- Os sistemas de secreção são classificados com base na sua função, estrutura e especificidade;
- Alguns desses sistemas também podem ser encontrados em arqueais e microrganismos eucariotos.

Sistemas secretórios e patogenicidade

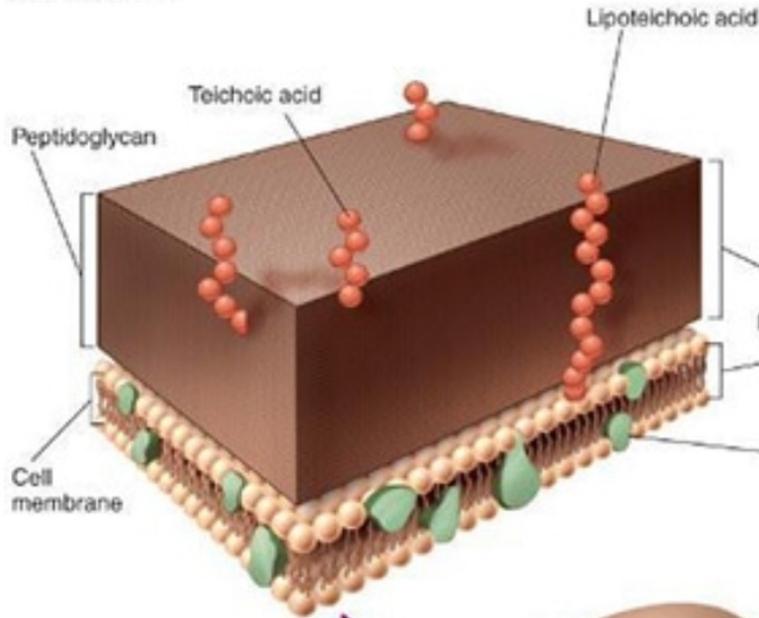
- Esses sistemas podem estar envolvidos na patogenicidade bacteriana em mamíferos e em plantas;
- O sistema imune inato do hospedeiro pode detectar e responder a presenças destes sistemas durante a infecção bacteriana

**Vamos entender como os
sistemas secretórios funcionam**

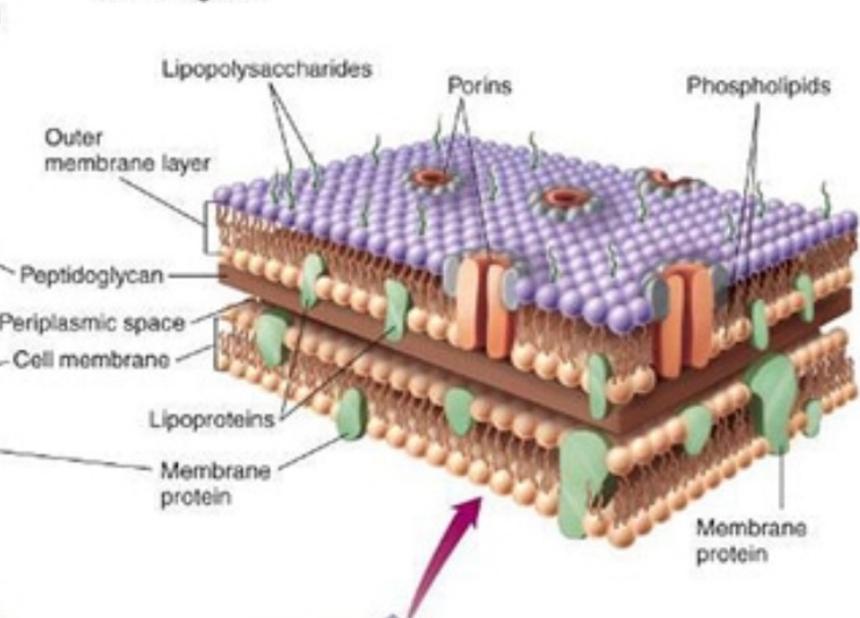
Relembrar as diferenças entre G+ e G-

Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. Permission required for reproduction or display.

Gram-Positive

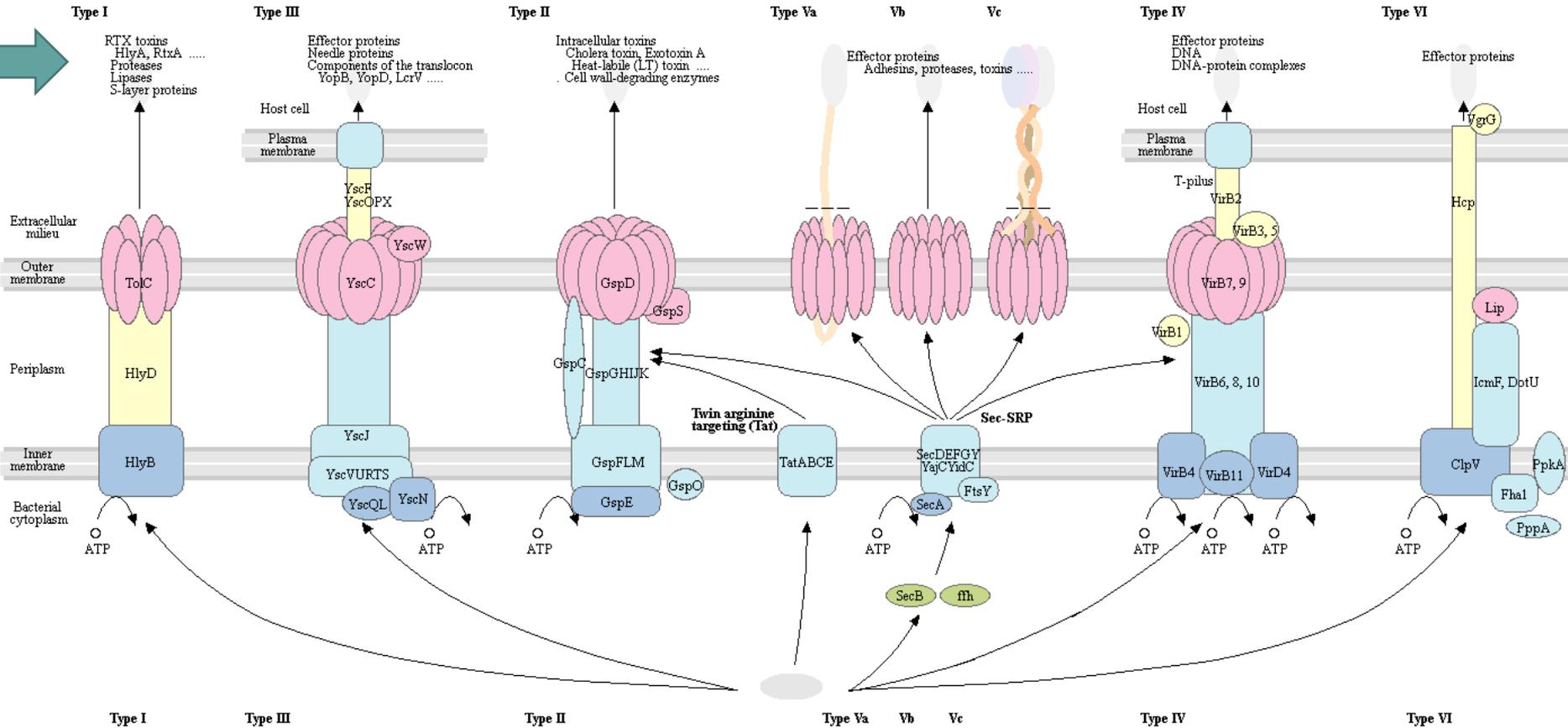


Gram-Negative



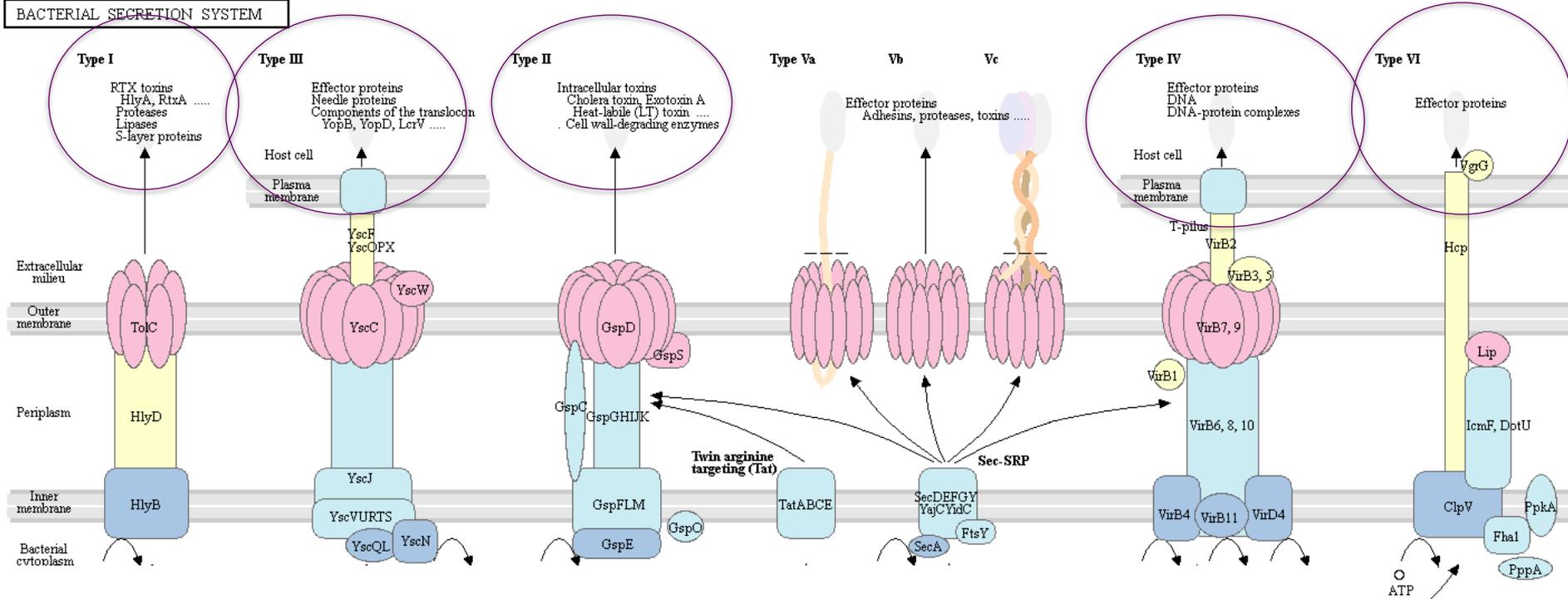
Secretion System Function

BACTERIAL SECRETION SYSTEM



Secretion System Components

BACTERIAL SECRETION SYSTEM



The T5SS and T2SS use a two-step secretion mechanism.

T2SS, T6SS can secrete folded or partially folded substrates.

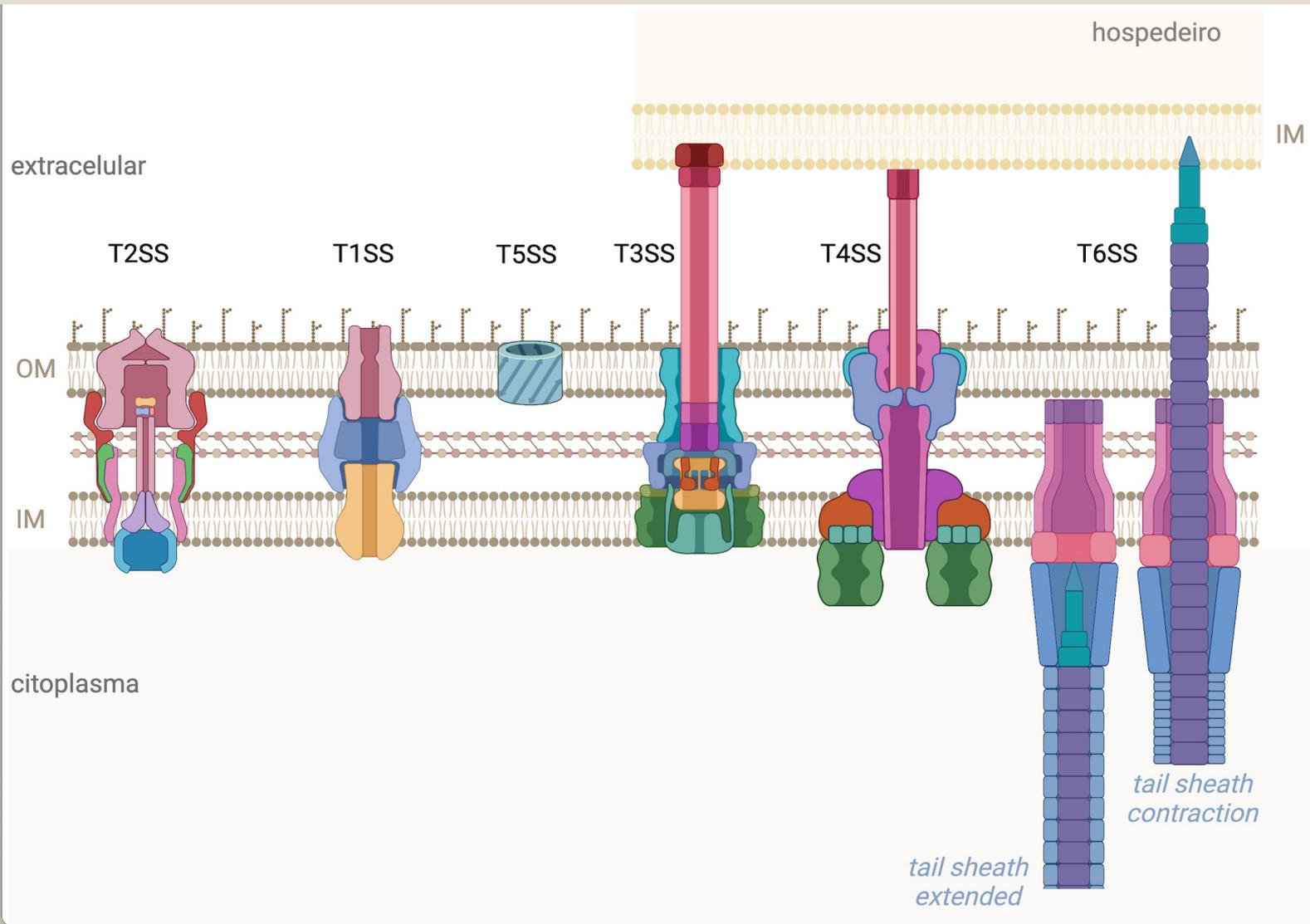
Type I

Type III

Type II

Translocam as duas membranas

(T1SS, T3SS, T4SS and T6SS) use one-step mechanism,



Apendices extracelulares bacterianos

- **Os sistemas de secreção:**
secretam efetores

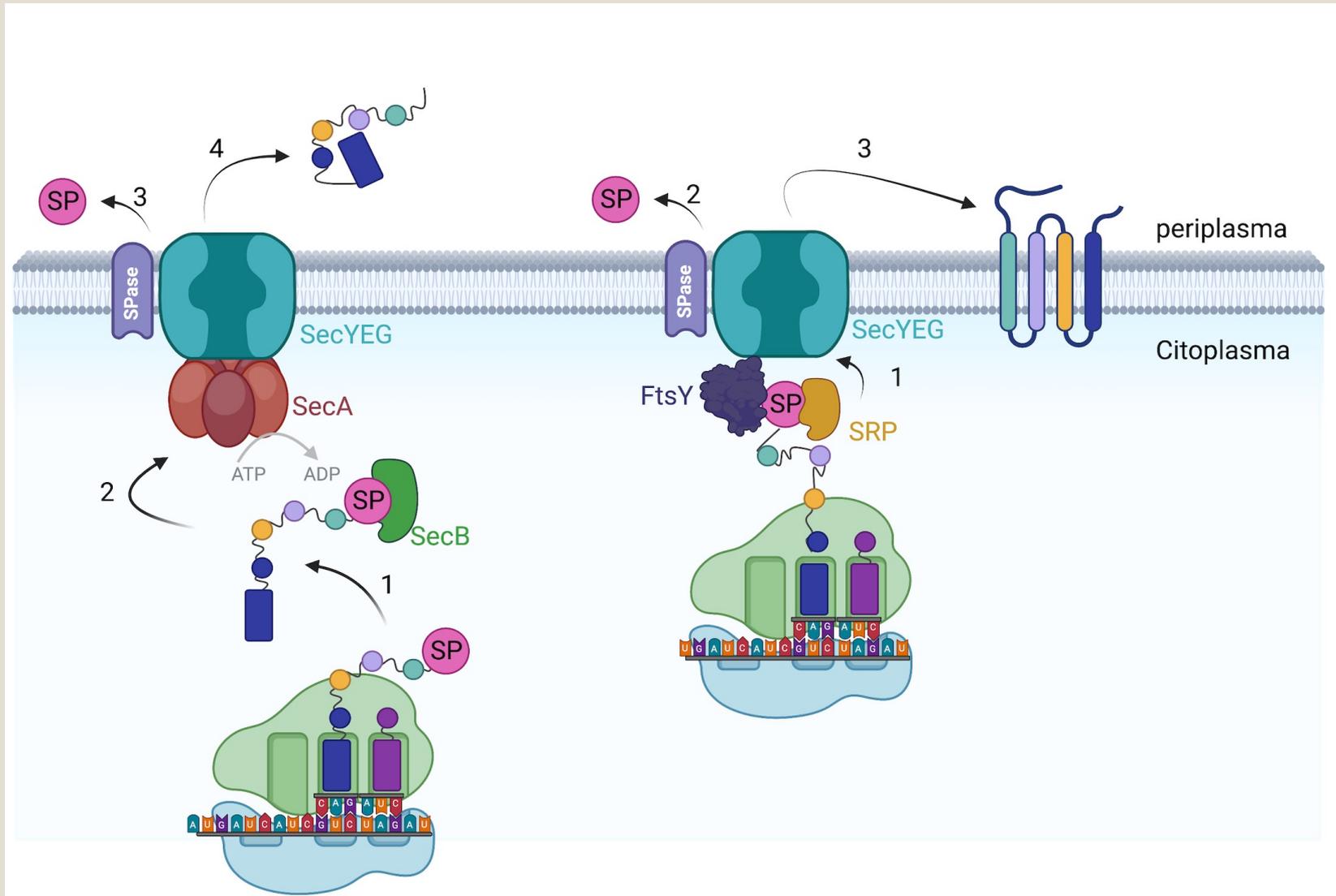
Os pilus e fimbrias:

- motilidade e adesão

General Secretion System – Sec System

A translocação de proteínas do citoplasma através da membrana citoplasmática em bactérias Gram-positivas e Gram-negativas é mediada por dois sistemas de secreção que são comuns a ambos os tipos de bactérias, o **SecYEG translocon (Sec)** e o **sistema TAT** (*twin-arginine-translocation system*). Esses sistemas foram identificados em todos os domínios da vida, que inclui bactérias, arqueais e eucariotos.

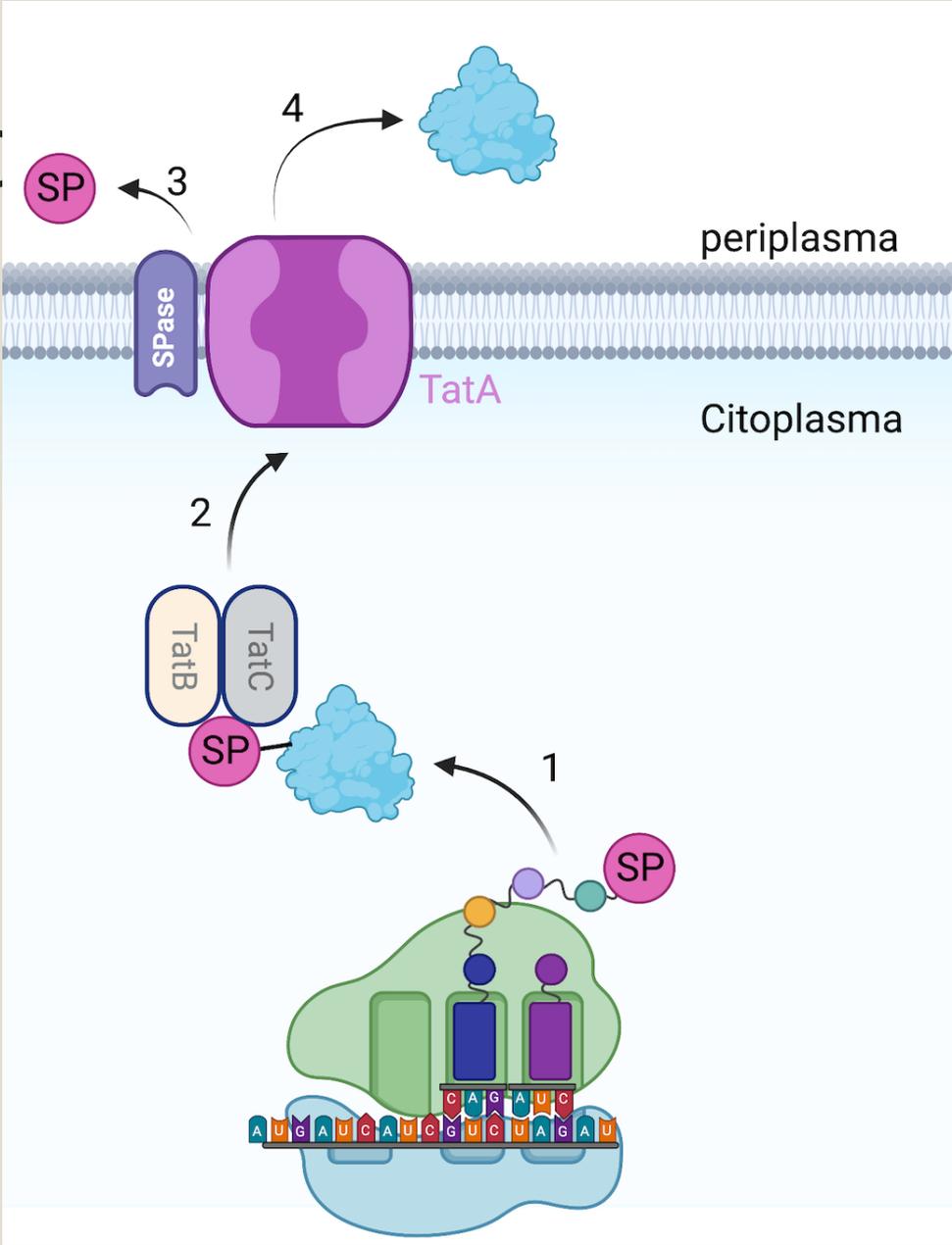
Sistema Sec



Sistema Sec

https://www.youtube.com/watch?v=YvVIUp_AKjs

Sistema



T1SS (ou sistema ABC de transporte)

- Exemplos de efetores:

enzimas digestivas como proteases e lipases, adesinas, proteínas ligadoras de grupo heme e proteínas com motivos de RTX (*repeats-in-toxins*).

- Exemplos de fatores de virulência secretados por este sistema são a toxina MARTX por *V. cholerae*, hemophore HasA por *Serratia marcescens* e hemolisina HlyA pela *E. coli* uropatogênica.

- A proteína protótipo desse sistema é a α -hemolisina de *Escherichia coli*. O T1SS é responsável pela secreção de outros fatores de virulência bacterianos, como a adenilato ciclase de *Bordetella pertussis*, lipases de *Serratia marcescens*, leucotoxina e proteases de *Pseudomonas aeruginosa*.

- Este sistema também é empregado para a internalização de nutrientes essenciais para a sobrevivência, como açúcares, aminoácidos, poliaminas, entre outros.

- O sinal para exportação reside na porção carboxiterminal da proteína, contendo motivos repetitivos ricos em resíduos de glicinas (GGxGxD), o qual não é clivado após a secreção da proteína diretamente no meio extracelular.

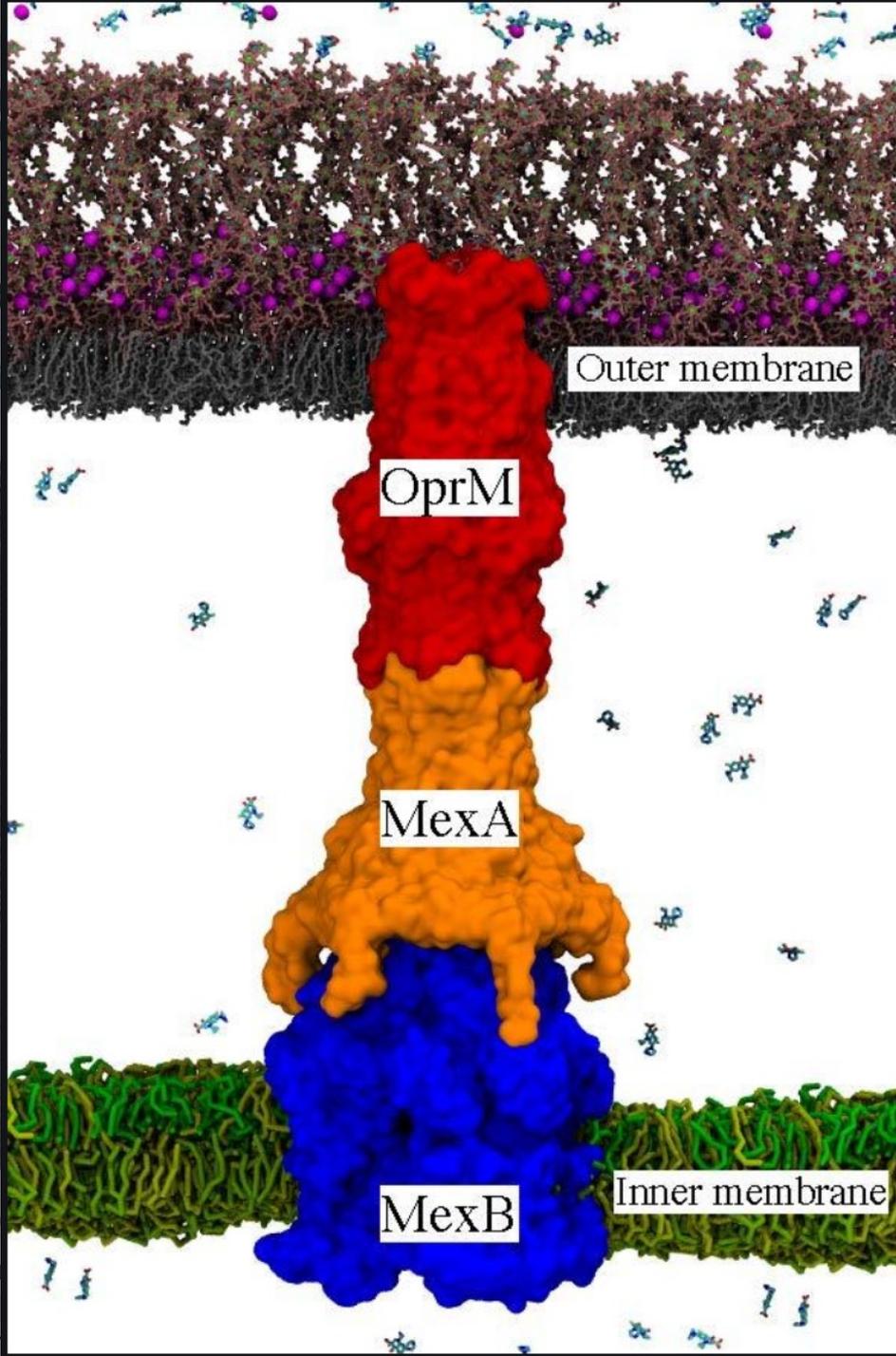
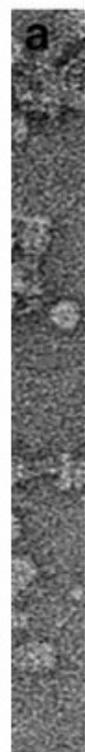
T1SS e bomba de efluxo?

- Relacionada com as bombas de efluxo - *resistance-nodulation-division* (RND).
- Tanto o RND quanto o T1SS são sistemas tripartidos, composto por três componentes estruturais:
- 1- complexo de membrana interna (IMC, *inner membrane complex*) que pertence a família de proteínas transportadoras do tipo ABC;
- 2- uma proteína de fusão de membrana (MFP, *membrane fusion protein*), localizada no periplasma e acopla ao complexo de membrana interna com o poro de membrana externa e;
- 3- poro de membrana externa que na maioria dos casos é formada por TolC.

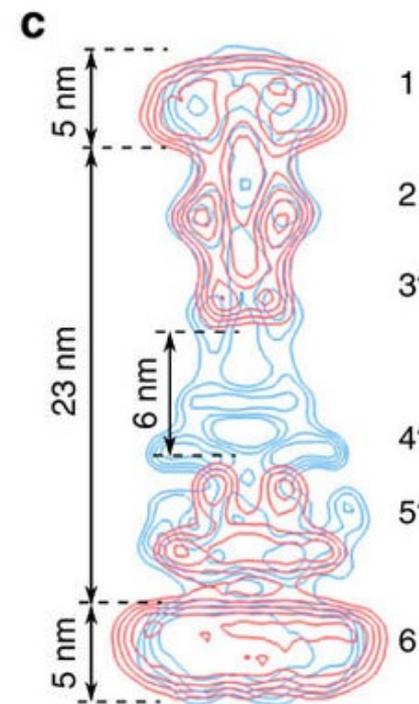
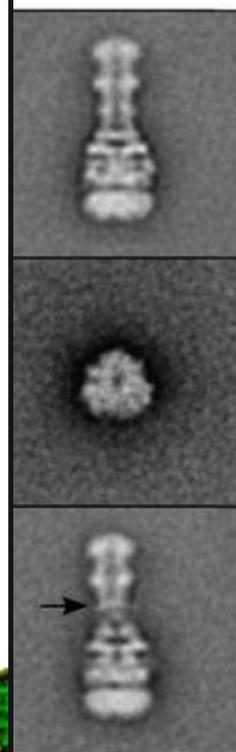
Figure

From: Tri

–OprM assembly.



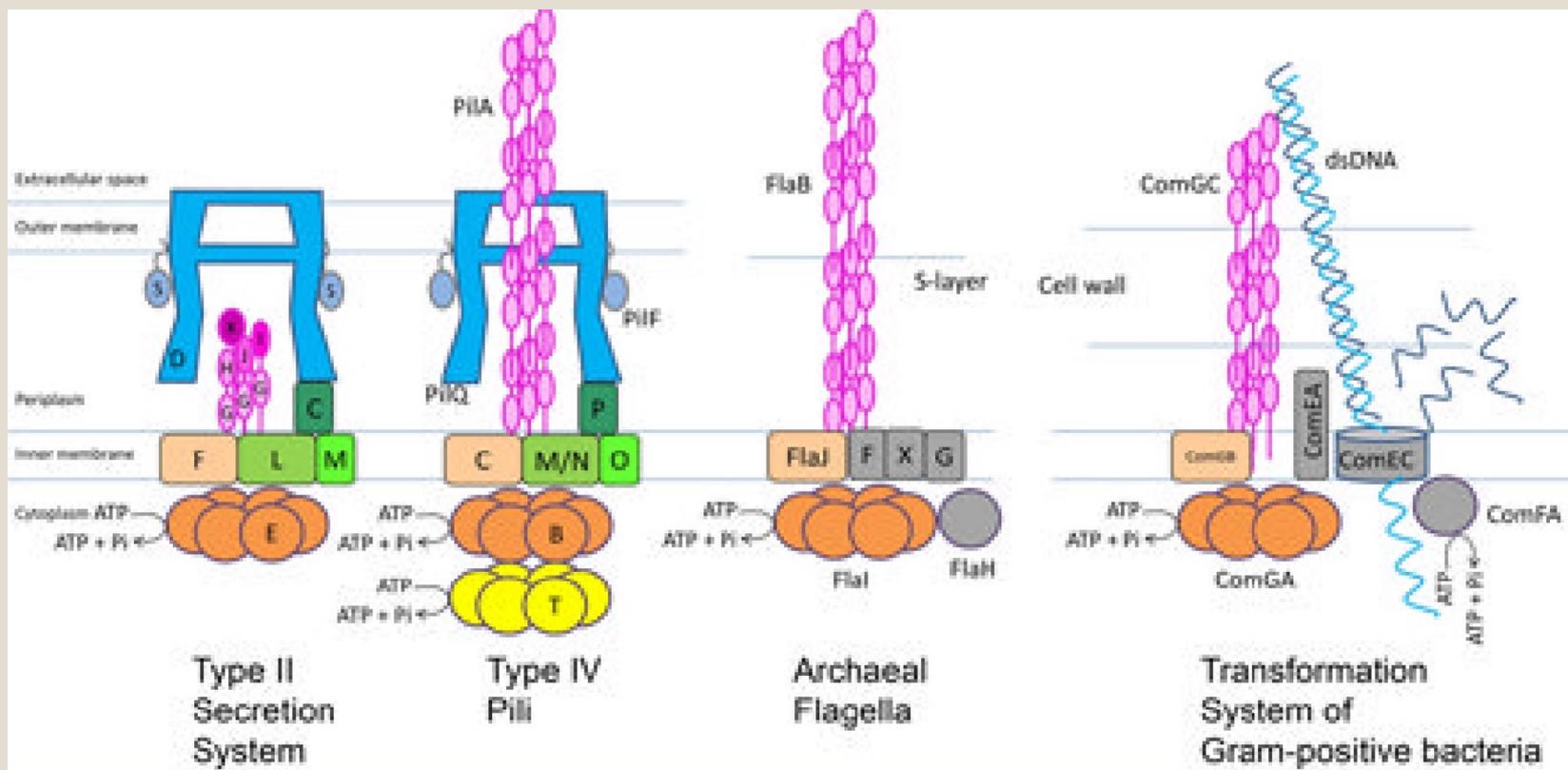
(a) Field of
bar, 30 nm



–ND were mixed in the presence of MexA. Scale
partite MexAB–OprM complex delineated by two

Sistema de Secreção tipo II & T4P

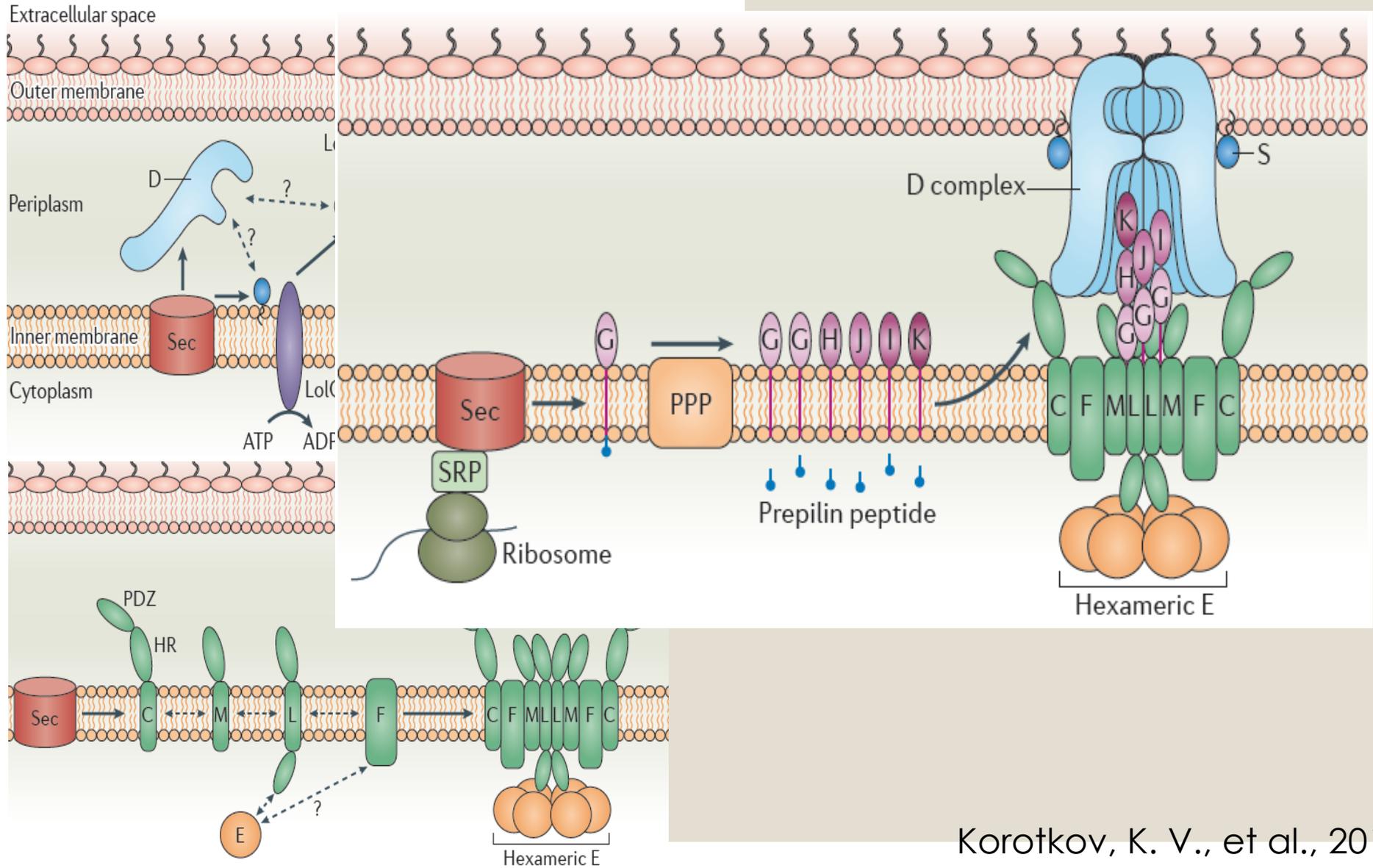
T2SS é similar a maquinaria de montagem do **flagelo de arqueas** e a maquinaria envolvida na **transformação bacteriana** via captação de DNA exógeno em bactérias Gram-positivas.



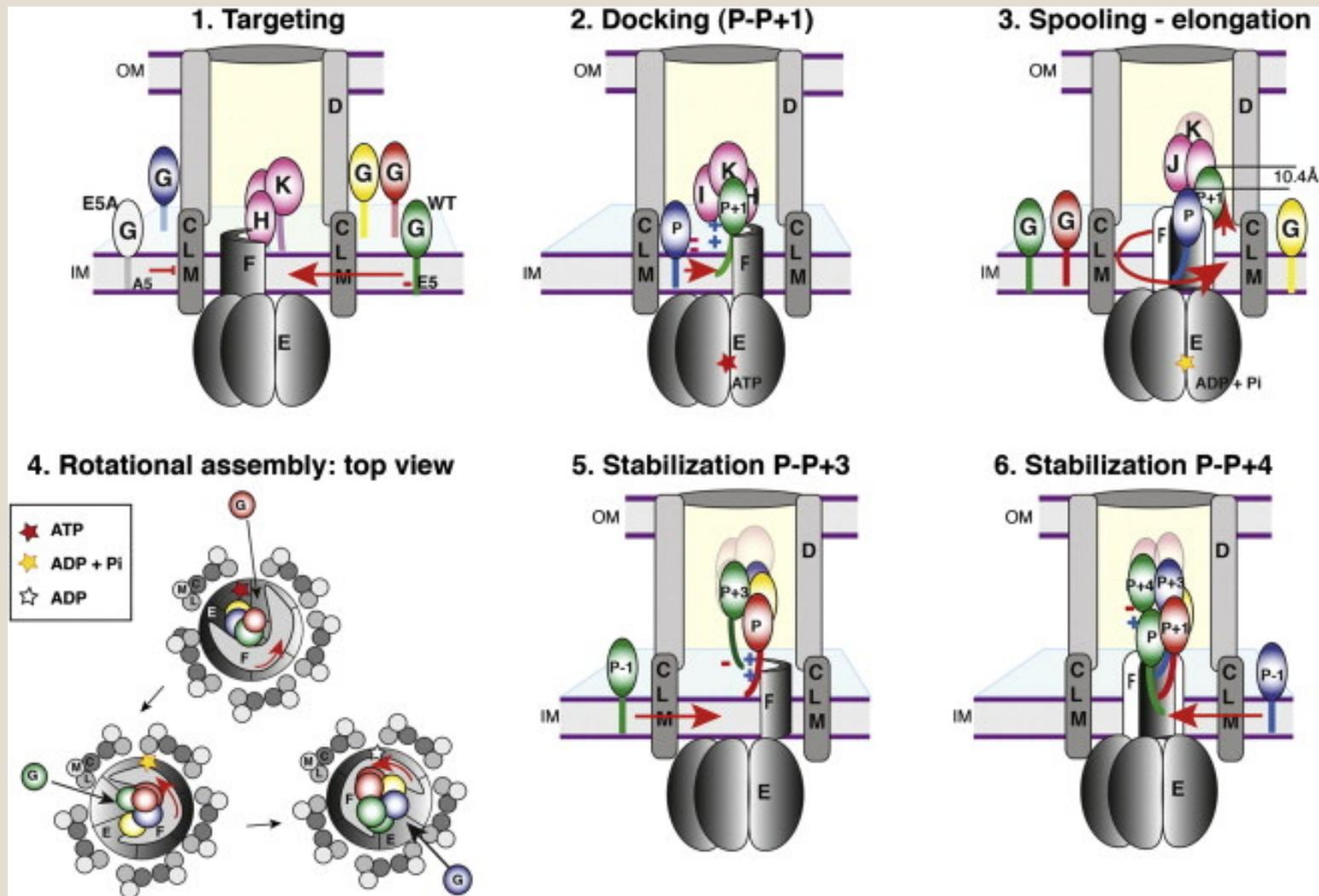
T2SS & T4P

- T2SS envolvido na secreção de proteínas enoveladas, periplasma, para o meio extracelular.
- Variedade de substratos:
 - proteases, lipases, fosfatases e toxinas.
- Exemplos:
 - toxina de colera AB₅ e neuraminidase por *Vibrio cholerae*,
 - chitinase A por *V. harveyi*,
 - pseudolisina e exotoxina A por *P. aeruginosa*,
 - proaerolisina por *A. hydrophila*,
 - pectate lisase C, endo-pectate lyase e cellulase 5 por *D. dadantii*,

Montagem da maquinaria do T2SS

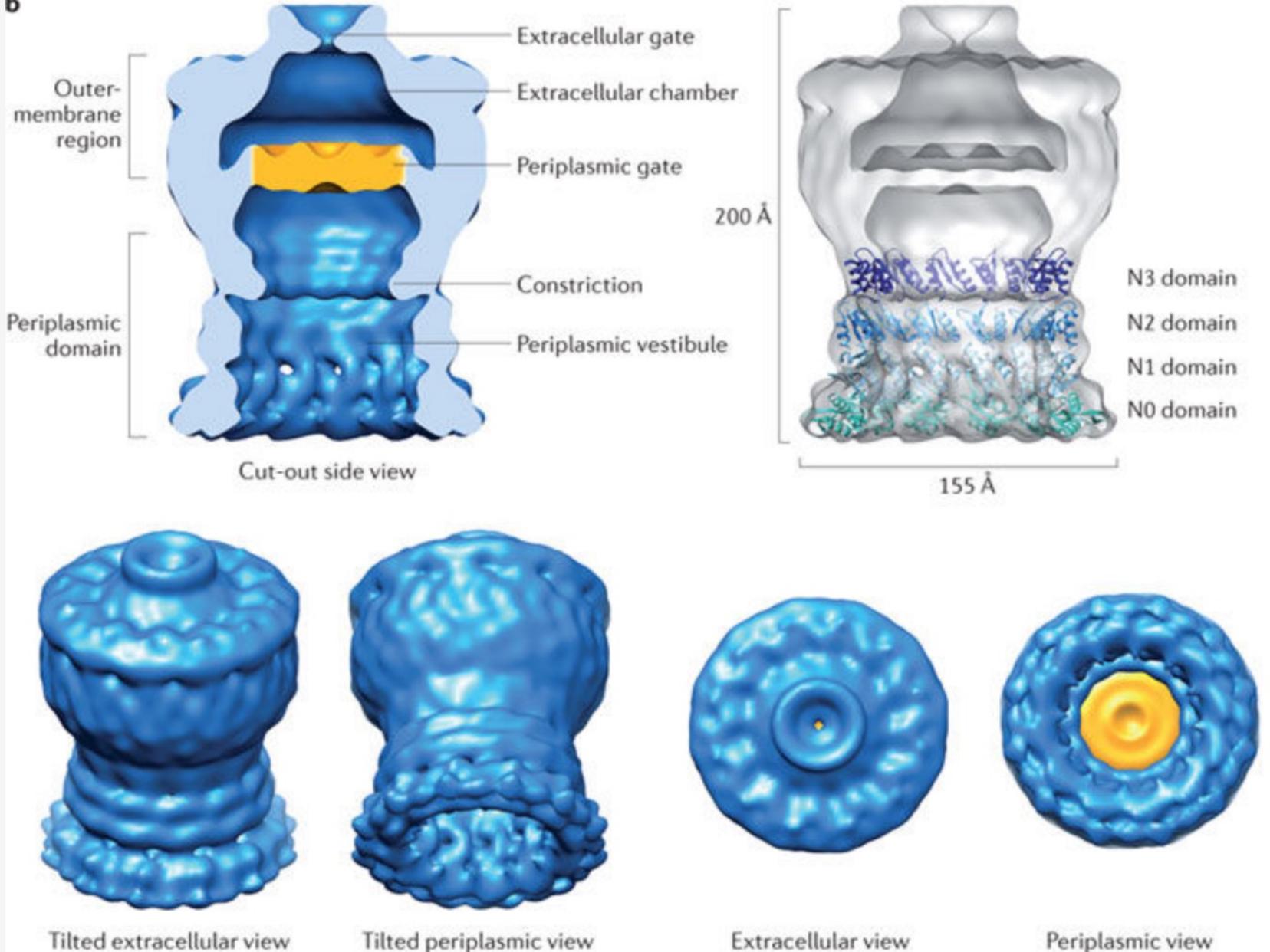


Pilina – T2SS



OM

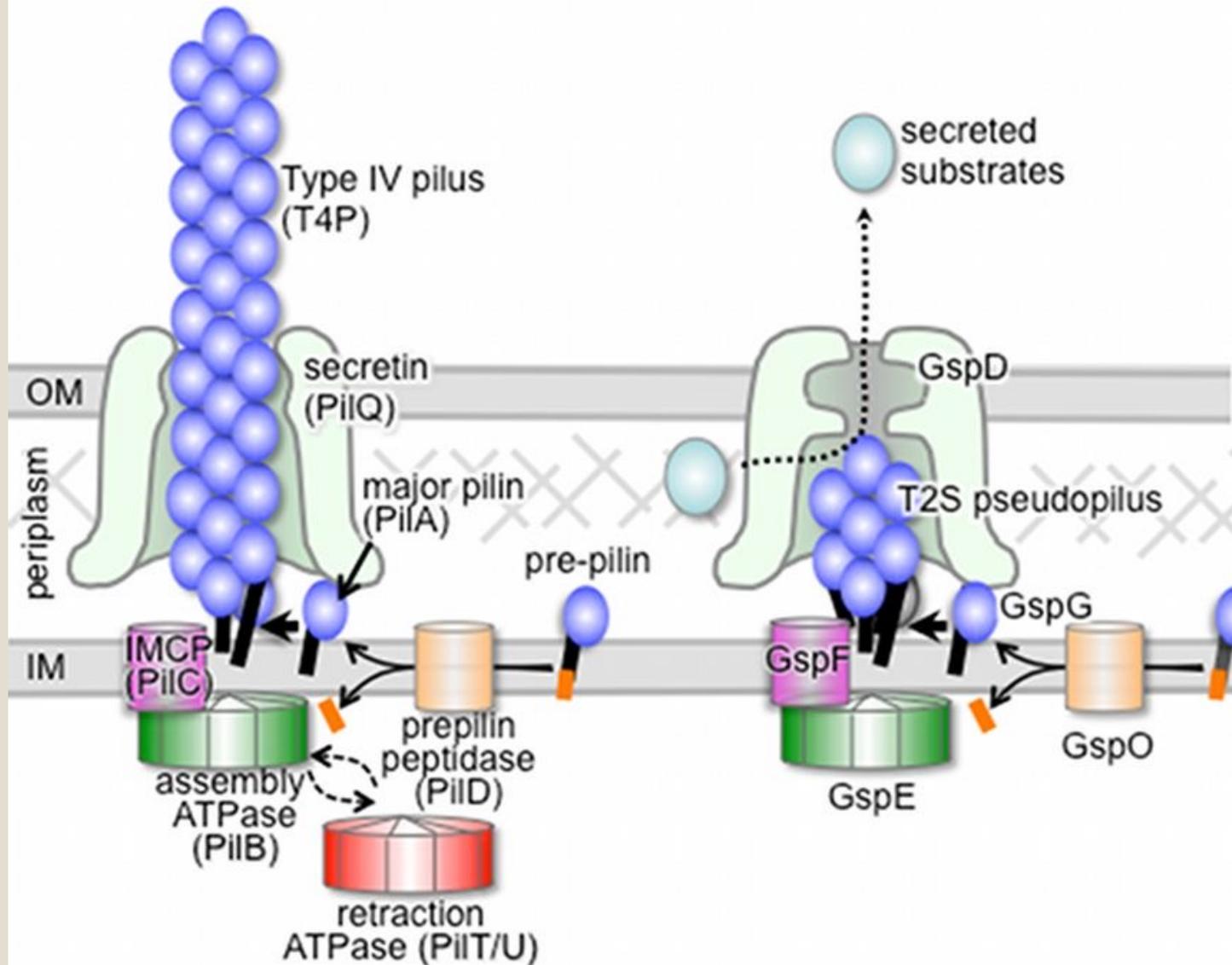
b



Cryo-electron microscopy structure of the *Vibrio cholerae* T2SS

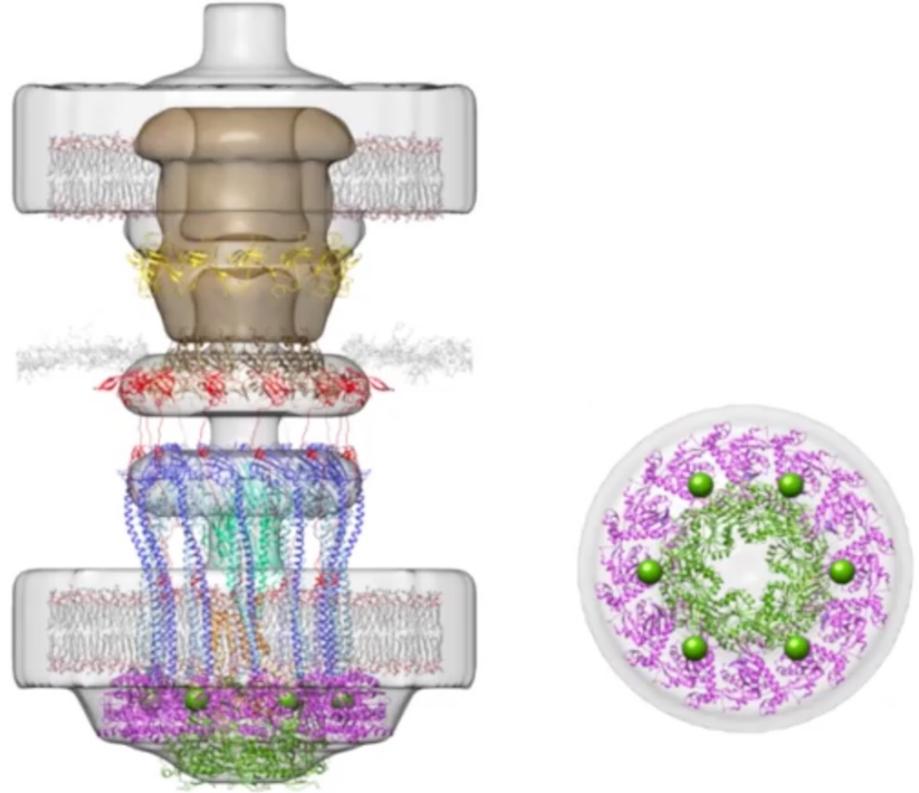
Gram-negative T4P

Type II secretion



T4P

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



P. aeruginosa

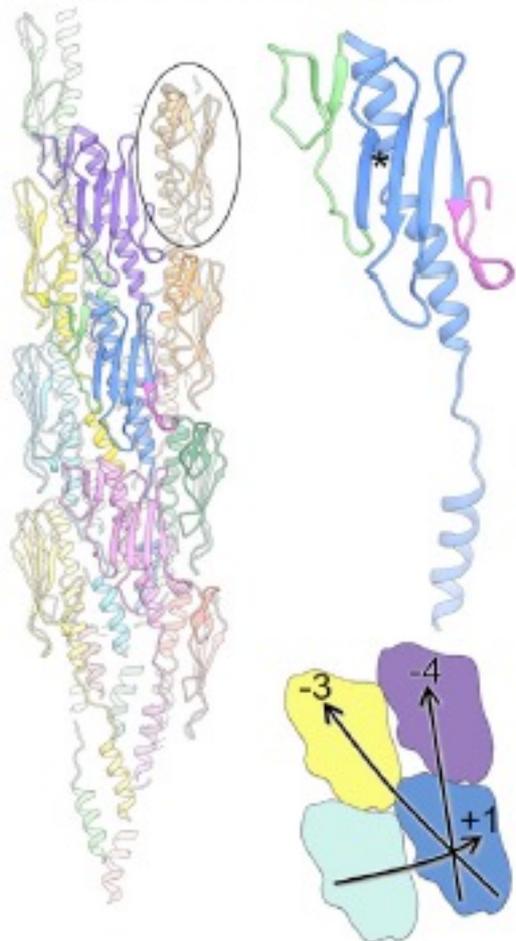
<https://www.youtube.com/watch?v=yby-a1Pnp-Q>

<https://www.youtube.com/watch?v=oR-N0uSsvkQ>

<https://www.youtube.com/watch?v=NLZ3nDQM98c>

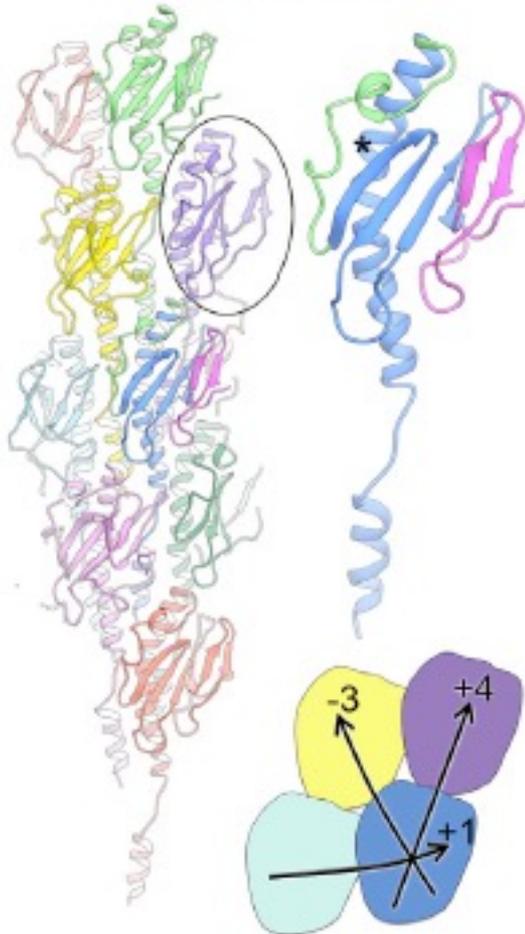
Pilus tipo IV está envolvido em

A *P. aeruginosa* strain K



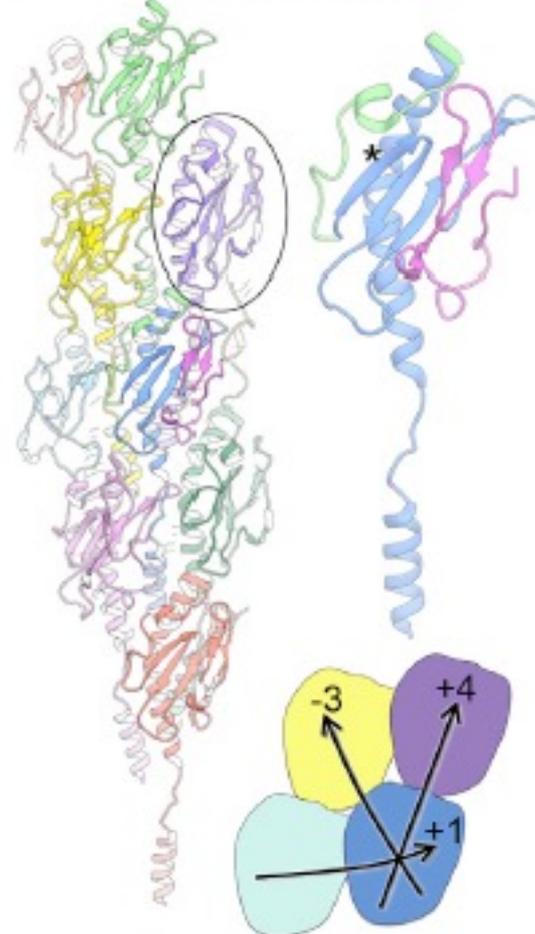
+1: 10.5 Å; 87.6°
-3: 31.5 Å; -98.1°
-4: 42 Å; -10.8°

B *N. gonorrhoeae*



+1: 10.1 Å; 100.8°
-3: 30.4 Å; -57.6°
+4: 40.5 Å; 43.2°

C *N. meningitidis*



+1: 10.3 Å; 100.8°
-3: 30.9 Å; -57.6°
+4: 41.2 Å; 43.2°

T3SS – Muito importante na patogenicidade

- inúmeros fatores de virulência que são transportados e manipulação a célula hospedeira: envolvidas em processos de adesão, invasão, sobrevivência intracelular, inflamação e alteração de processos celulares .
- injetados na célula hospedeira, atuam subvertendo importantes funções celulares, causando alterações na arquitetura e metabolismo celular.
- O T3SS foi inicialmente descrito em *Yersinia pestis* e visualizado em *Salmonella* Typhimurium, sendo posteriormente detectado em *Escherichia coli* enteropatogênica e enterohemorrágica, *Shigella flexneri*, *Yersinia* spp., *Bordetella* spp., *Pseudomonas aeruginosa* e em alguns patógenos de planta (*Xanthomonas* spp., *Erwinia* spp., *Pseudomonas* spp. e *Ralstonia solanacearum*).

[nature.com](#) ▶ [journal home](#) ▶ [archive](#) ▶ [issue](#) ▶ [review](#) ▶ [abstract](#)

NATURE REVIEWS MICROBIOLOGY | REVIEW



Assembly, structure, function and regulation of type III secretion systems

Wanyin Deng, Natalie C. Marshall, Jennifer L. Rowland, James M. McCoy, Liam J. Worrall, Andrew S. Santos, Natalie C. J. Strynadka & B. Brett Finlay

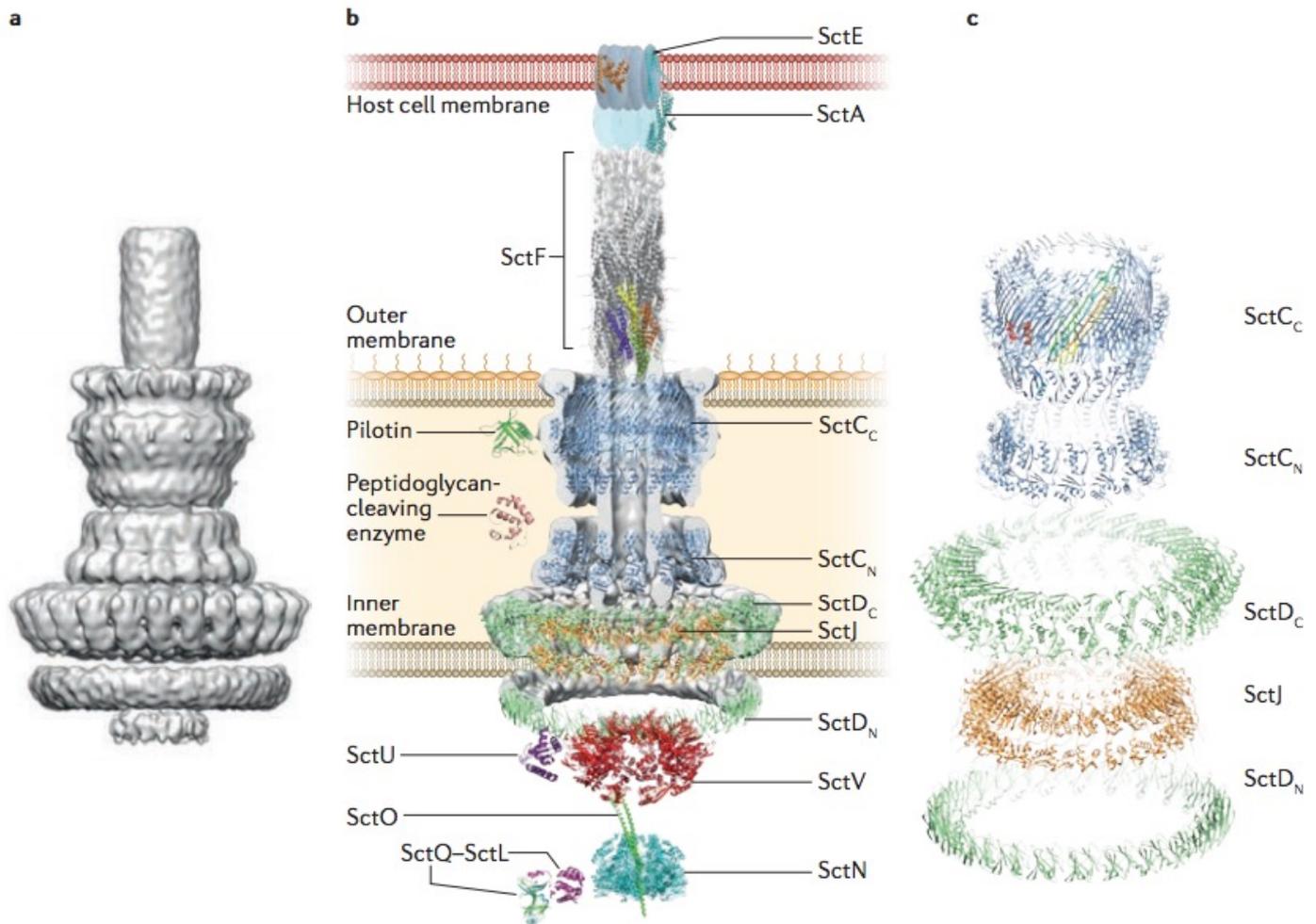
[Affiliations](#) | [Corresponding author](#)

Nature Reviews Microbiology **15**, 323–337 (2017) | doi:10.1038/nrmicro.2017.20

Published online 10 April 2017 | Corrected online **12 May 2017**

[Corrigendum \(June, 2017\)](#)

Sistema de Secreção tipo III



retion
channel

tive
ost
ed by
ial

Type III Secretion system

- <https://www.youtube.com/watch?v=OBf64TEo7gA>

Sistema de Secreção tipo IV (T4SS)

- ❖ Competição bacteriana
- ❖ Conjugação
- ❖ Transformação

T4SS na patogenicidade

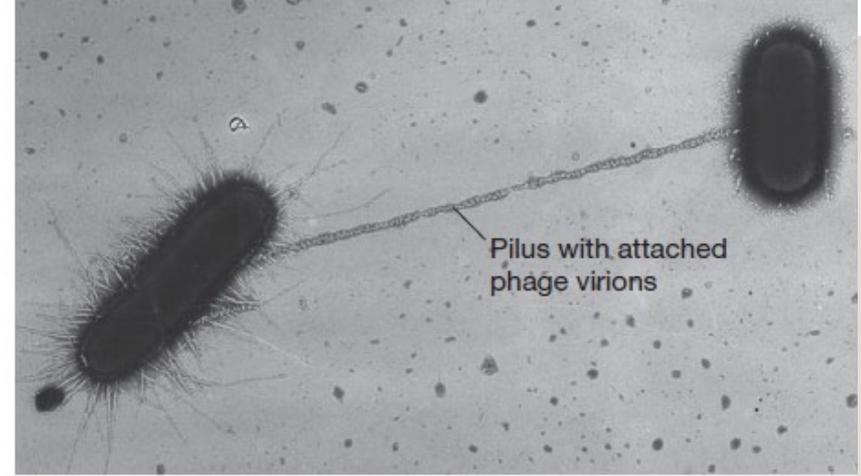
- *Bordetella pertussis*, *Legionella pneumophila*, *Coxiella burnetii*, *Brucella* spp., *Bartonella* spp. e *Helicobacter pylori*;
- As toxinas são injetadas diretamente no interior da célula hospedeira, tais como CagA de *Helicobacter pylori* e DotA/LidA de *Legionella pneumophila*;
- A toxina pertússica (PT) é uma exceção, sendo secretada no meio extracelular para depois se ligar à célula alvo e ser internalizada.

Conjugação

Plasmídeo F “Fertilidade” - Acasalamento

- Conjugação: Transferência genética entre duas células que envolve contato
- Envolve: célula doadora e receptora
- Mecanismo de transferência pode exibir diferenças dependendo do plasmídeo envolvido, a maioria das bactérias Gram – usam mecanismo parecido ao plasmídeo F
- Pode ser replicado e também integrado no cromossomo da célula hospedeira (via sequências IS - Sequências de inserção – que também são encontradas na célula do hospedeiro) .

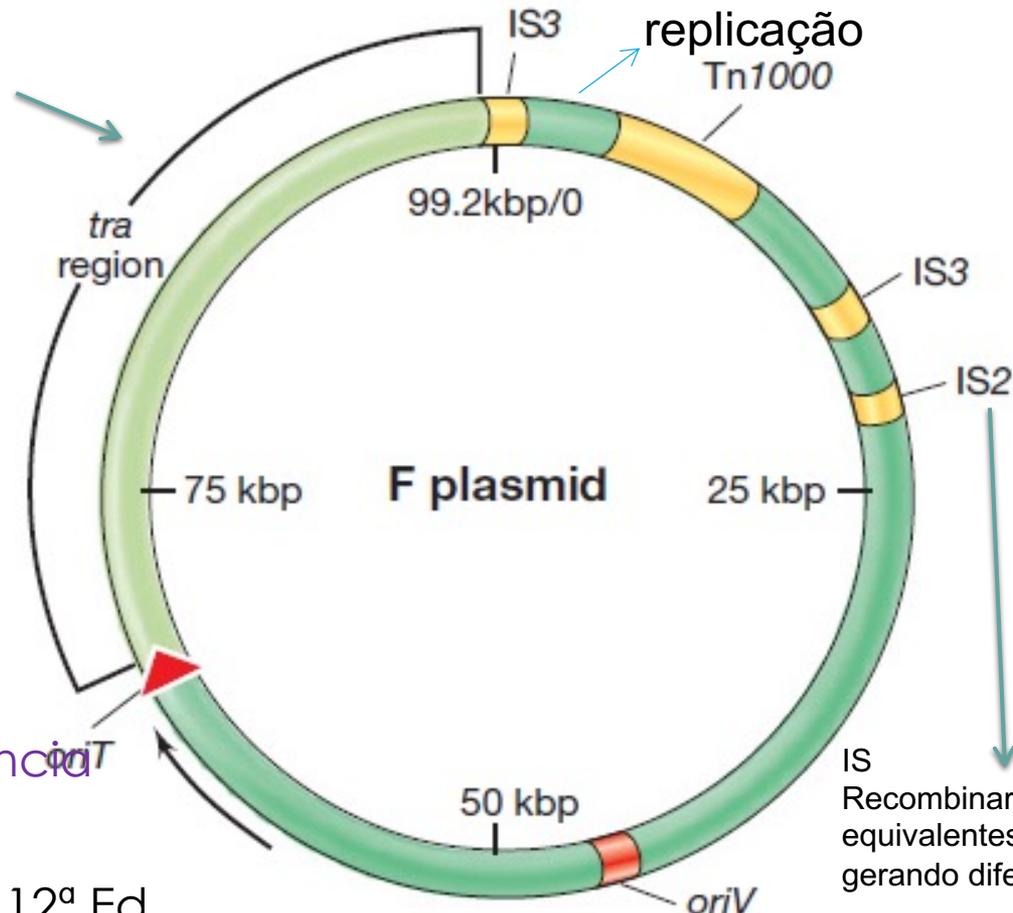
Plasmídeo F



Genes envolvidos na transferência do plasmídeo, como proteínas envolvidas na biossíntese do pili F

Genes envolvidos na formação do par conjugante

Diferentes plasmídeos podem codificar proteínas diferentes que vão ter o pili ligeiramente diferente



Origem de transferência

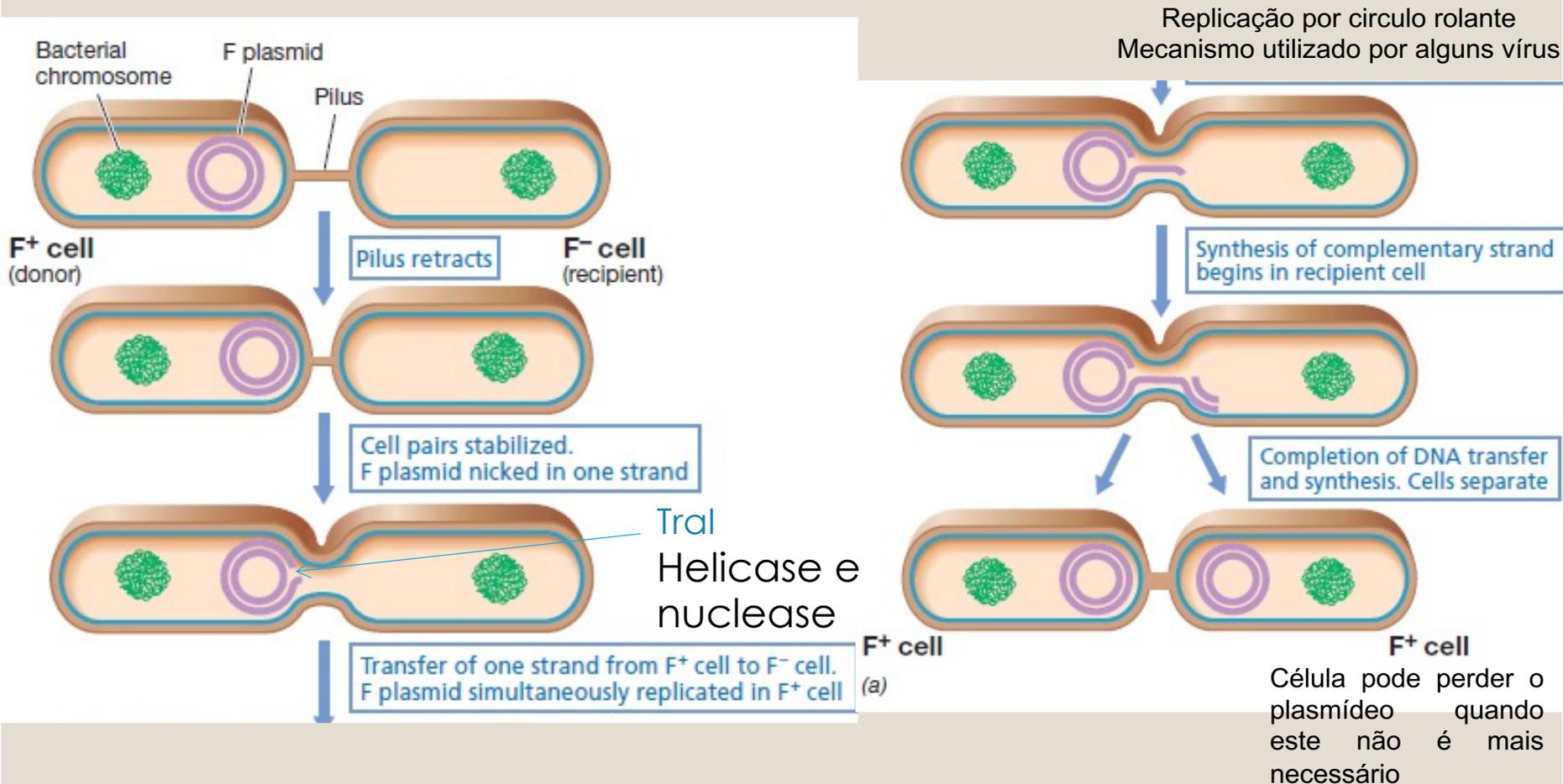
IS
Recombinar com sequências equivalentes na célula hospedeira gerando diferentes linhagens Hfr

Transferência do DNA Plasmidial por Conjugação

Processo que leva 5min (plasmídeo de 100 kp)

Consegue se dissimular rapidamente

Sendo, portanto um agente infeccioso



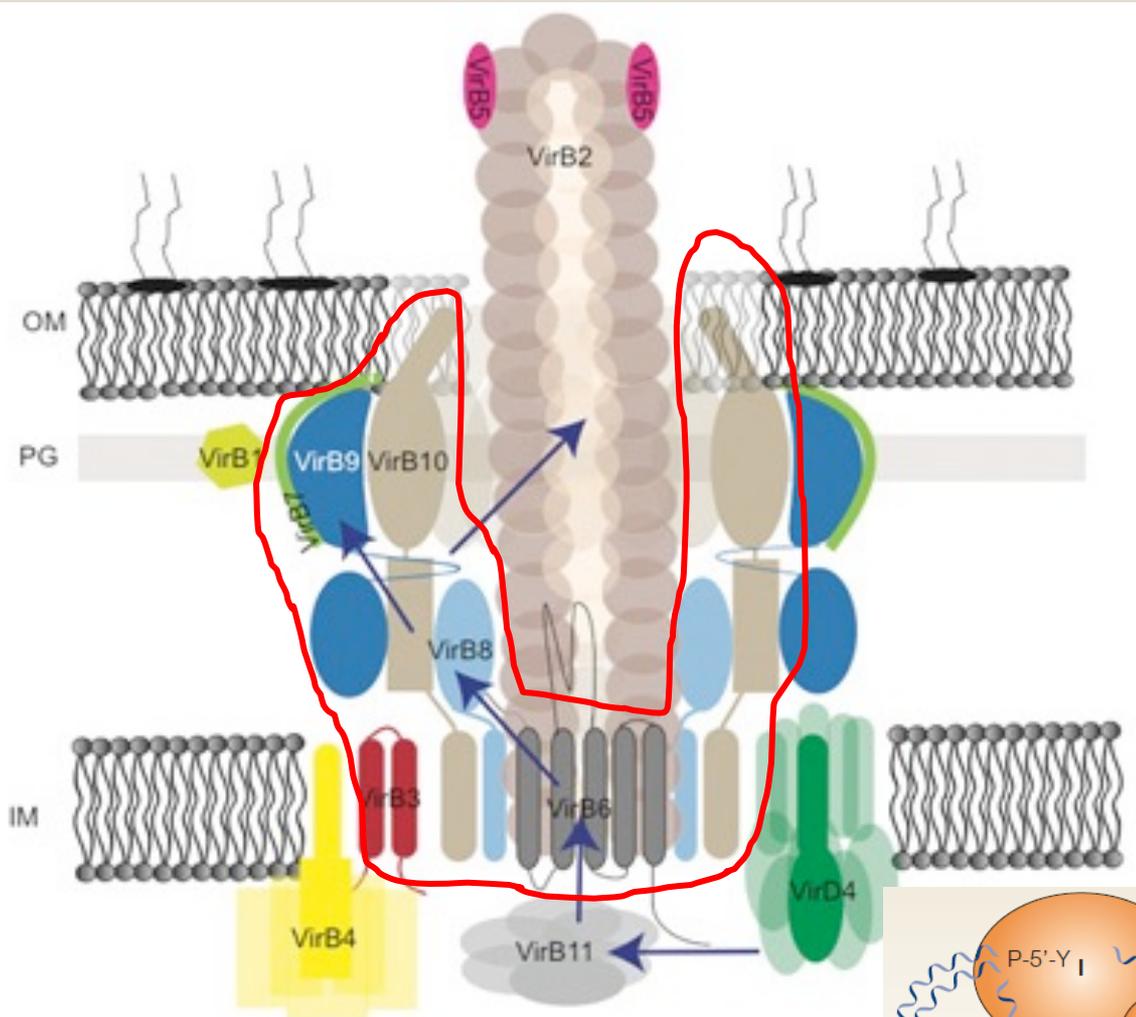
Como a bactéria consegue
“Acasalar”?

Porque conjugam? Será que isso é
bom para a célula receptora?

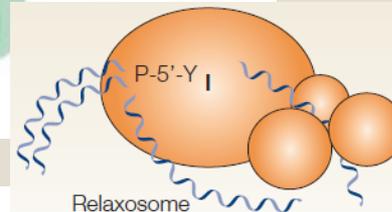
T4SS

- Gram negativas, Gram positivas e em algumas archaea
- O substrato:
 - DNA no processo de conjugação
 - VirB/D4 de *A. tumefaciens*
 - *pKM101* de *E. coli*
 - Proteínas, como fatores de virulência
 - *Legionella pneumophila* – doença dos Legionários
 - *Brucella suis* - doença brucellosis
 - *Helicobacter pylori* - doença gastroduodenal
 - Matar outras bactérias
 - Complexo proteína-DNA

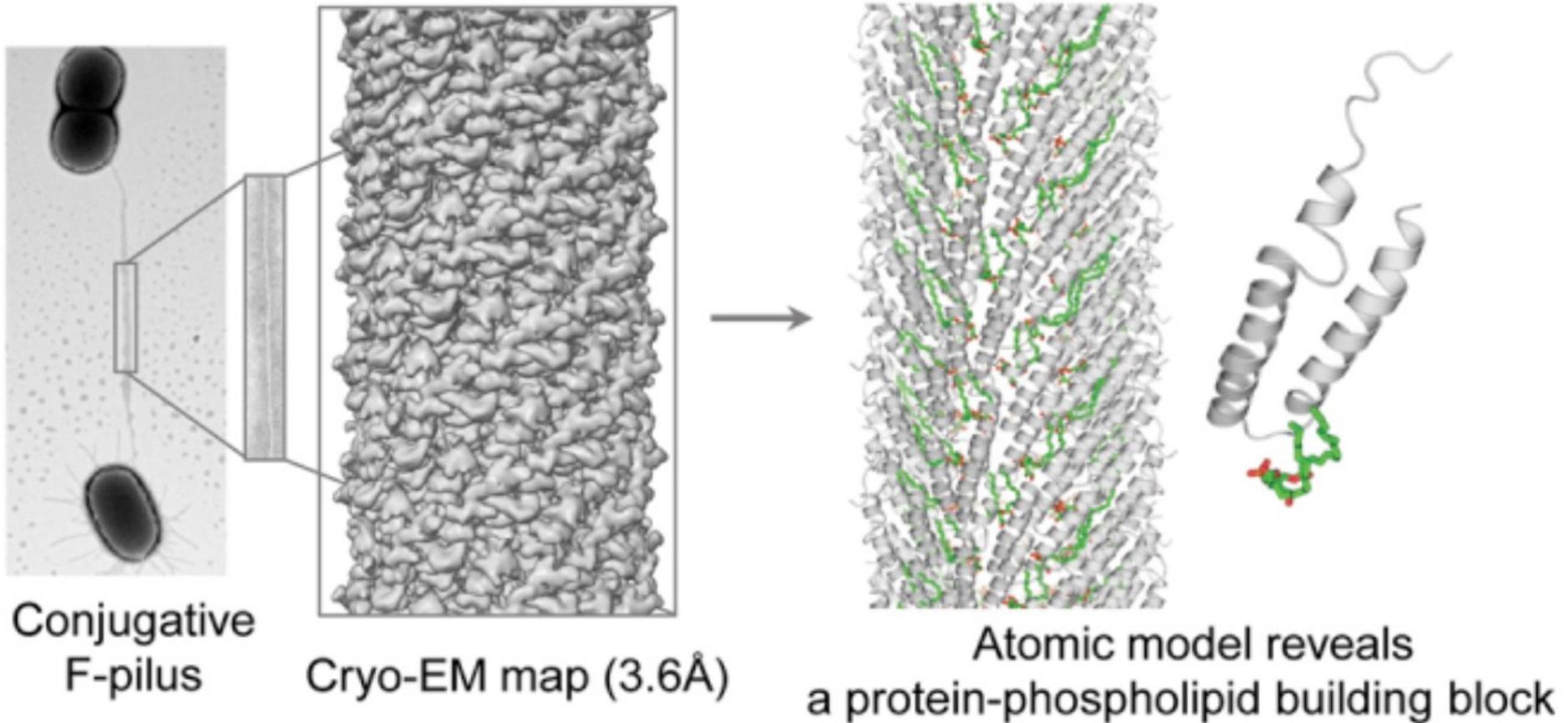
Transporta de forma direta (T3SS e T5SS/ Independente do Sistema Tat ou Sec



<https://www.youtube.com/watch?v=suL7LxC2NPg>



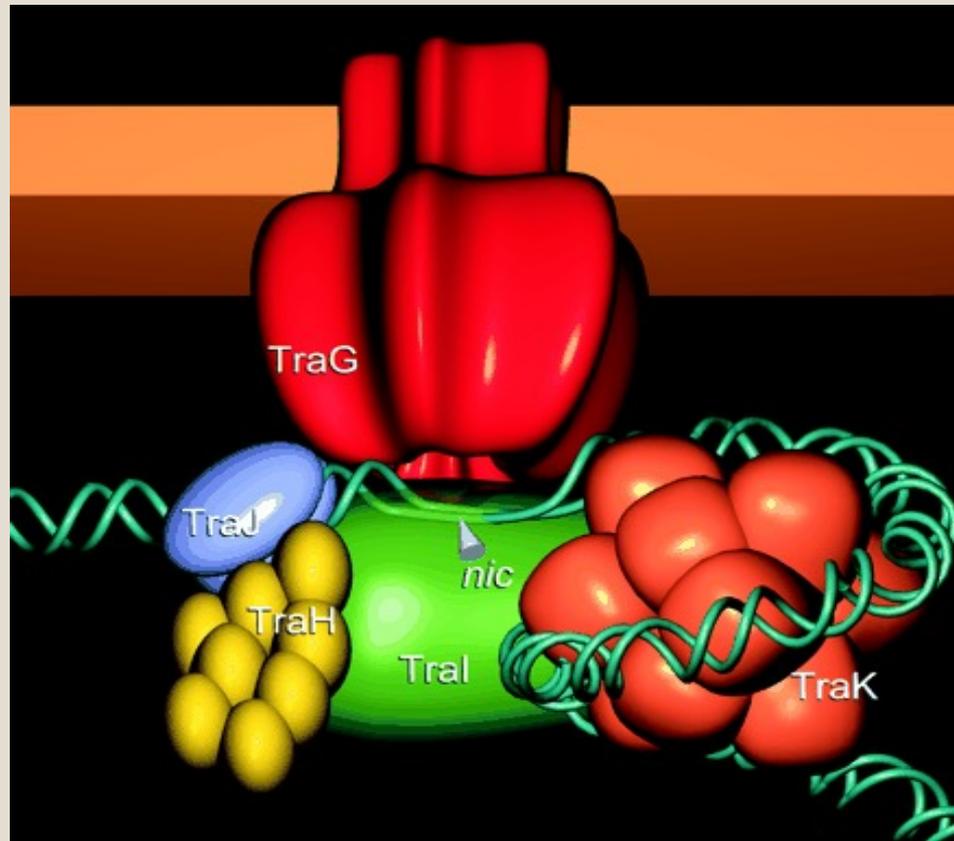
Pilus Conjugativo tem lipídio em sua estrutura



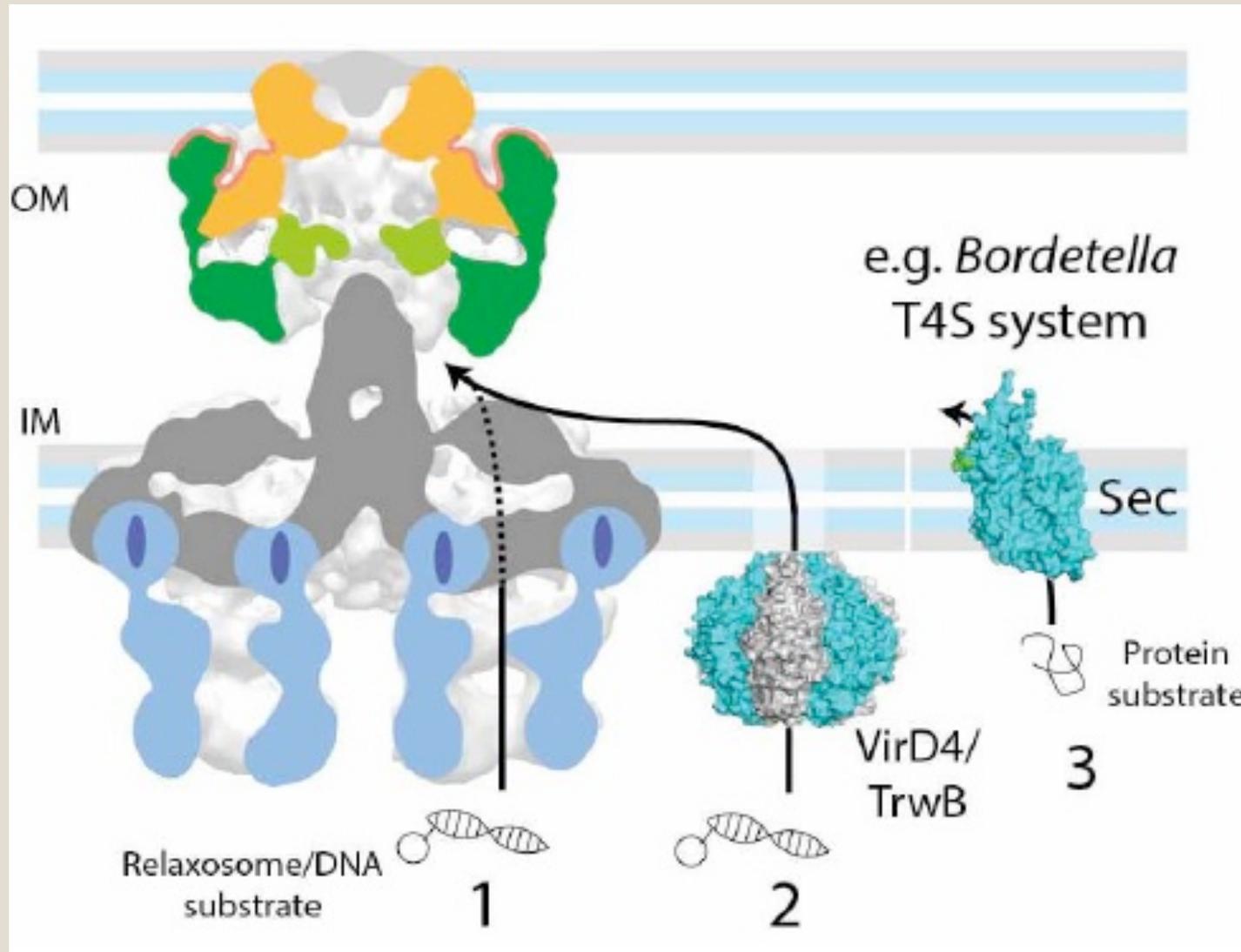
Relaxossomo – Complexo nucleoproteína

- Reconhecimento e Processamento do DNA

Modelo do Relaxossomo RP4



Modelo de secreção do Substrato via 2 passos pelo T4SS





Altmetric: 41 Citations: 15

[More detail >>](#)

Article

Background

Summary

Diagnosis

Diagnostics

Salivary

***X. citri* wild-type
(CFP)**

vs

***E. coli* (YFP)**

Field 1

an
K.

Type VI Secretion system

- pode injetar toxinas em fungos (microbianos eucarióticos);
- vasta diversidade de efetores:
 - Efetores que podem interferir no citoesqueleto do hospedeiro, morte de macrófagos humanos, facilitação da internalização bacteriana, promover a proliferação bacteriana intracelular através do escape fagossômico, evitar a ativação do inflamassoma NLRP3, ativação do inflamassoma Pyrin resultando na quebra do citoesqueleto e ativação da destruição do retículo endoplasmático, entre outros;
 - incluindo *Vibrio cholera*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Legionella pneumophila*, *Salmonella enterica*, *Escherichia coli* enteroagregativa, *Aeromonas hydrophila*, *Edwardsiella tarda*, *Burkholderia mallei*, *Francisella tularensis* e *Yersinia pestis*.

Type VI Secretion system

- contém as proteínas de imunidade;

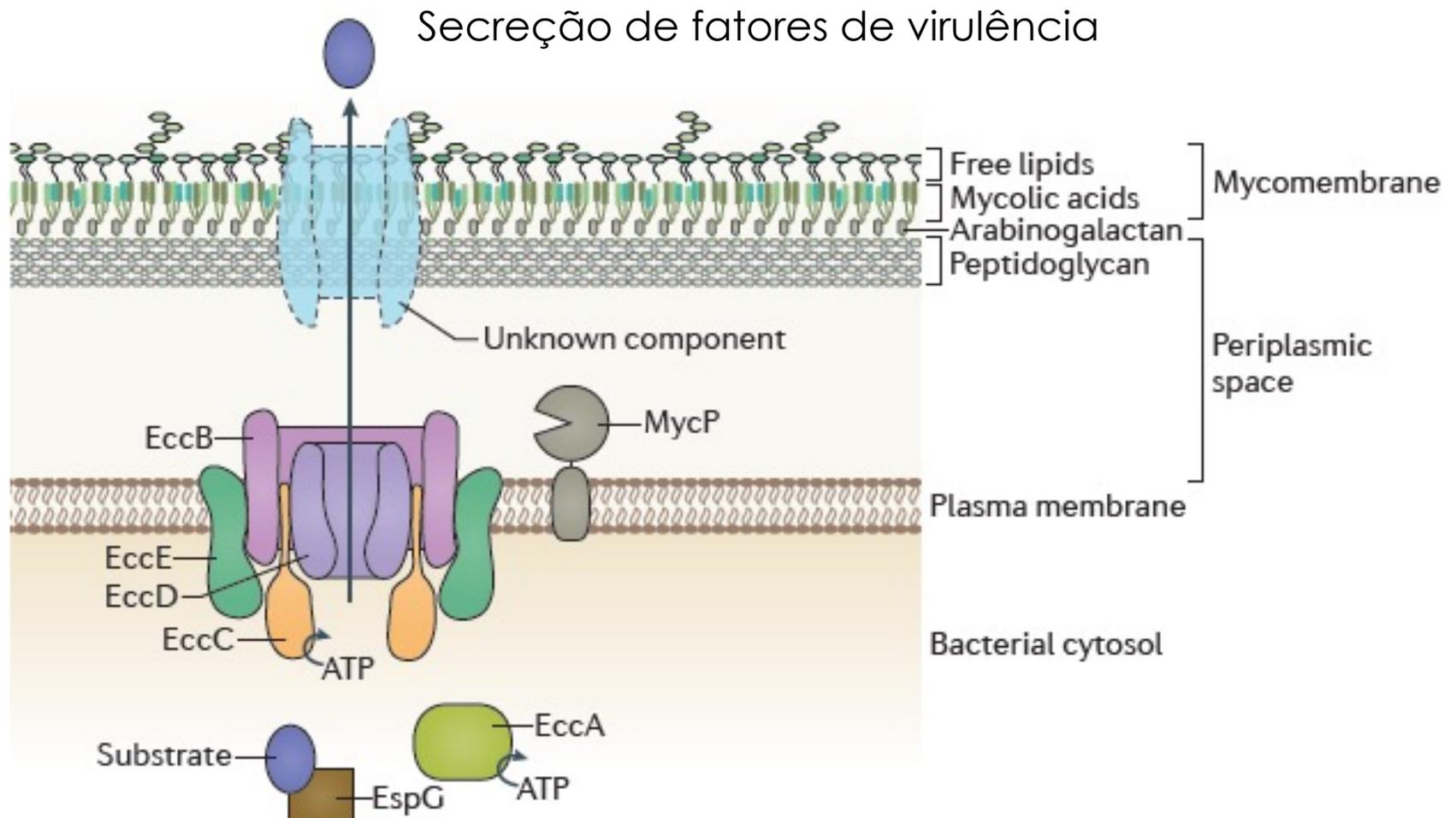
<https://www.youtube.com/watch?v=Xk7rxv6HtKo>

Existem outros sistemas de Secreção bacteriana

- T0SS
- T7SS - *Mycobacterium*
- T8SS
- T9SS

Type VII secretions system

Apenas encontrado em *Mycobacterium*



T9SS

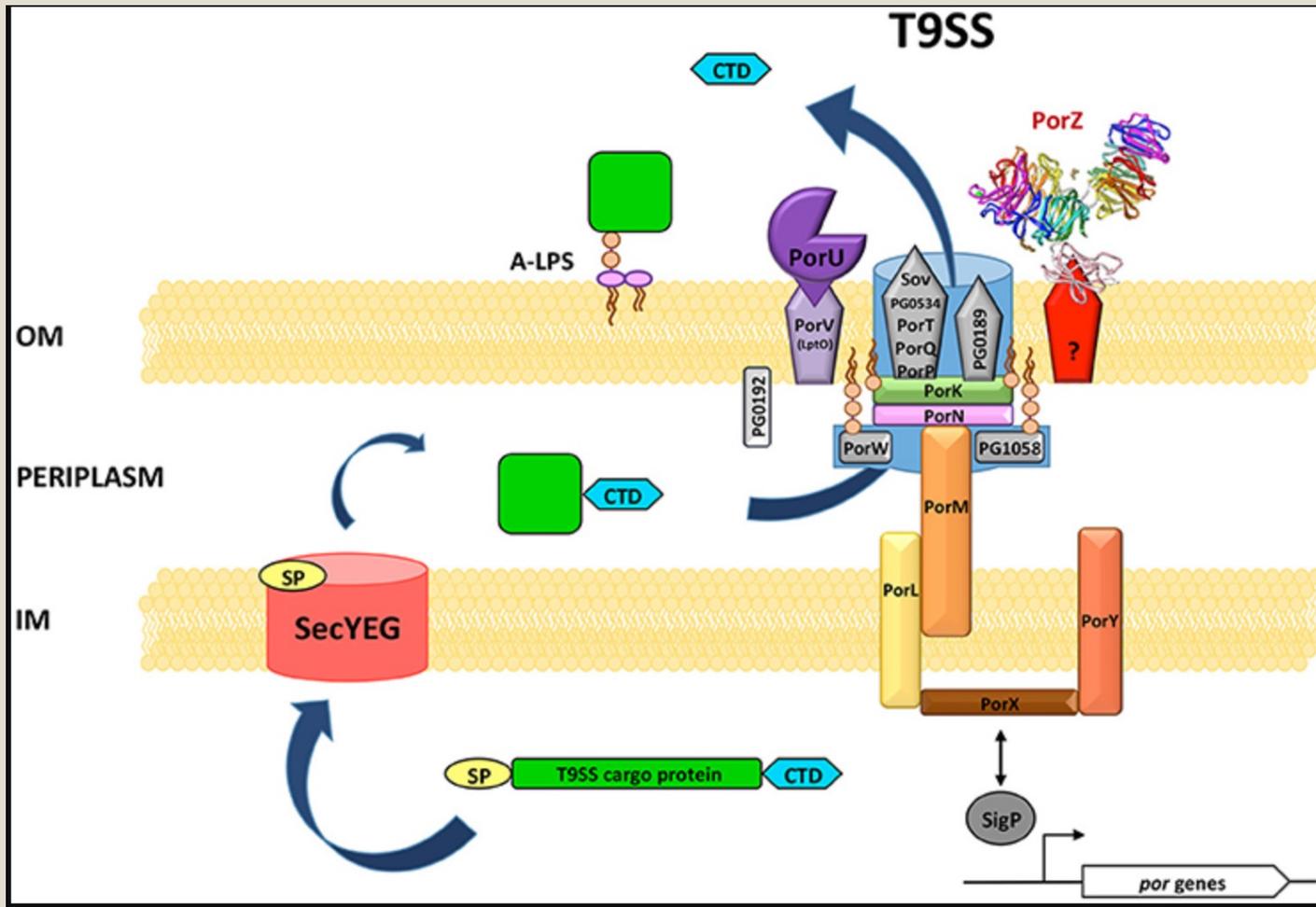
- found only in some species of the *Bacteroidetes* phylum;
- Plays two roles: movement (called gliding motility) or a weapon for pathogens.
- Found in *Flavobacterium johnsoniae*, a commensal microorganism often found in water and soil, and *Porphyromonas gingivalis*, a human oral pathogen that is a major causative agent of periodontitis.
- T9SS translocates proteins, especially virulence factors;
- At least 18 proteins are involved in this still enigmatic process;
- Upon translocation across the OM, the CTD is removed by a protease and an anionic LPS is attached to the newly formed C-terminus;
- The effector could be secreted into the extracellular milieu or covalently attached to the bacterial surface;
- T9SS is regulated by a two-component system; however, the precise environmental signal that triggers it has not been identified.



T9SS

The Type IX Secretion System (T9SS): Highlights and Recent Insights into Its Structure and Function

Anna M. Lasica^{1,2*}, Miroslaw Ksiazek^{1,3}, Mariusz Madej³ and Jan Potempa^{1,3*}



The outer membrane vesicles: Secretion system type zero

Andrea Guerrero-Mandujano¹ | Cecilia Hernández-Cortez² | Jose Antonio Ibarra³ |
Graciela Castro-Escarpulli¹

¹Laboratorio de Bacteriología Médica,
Departamento de Microbiología, Escuela
Nacional de Ciencias Biológicas, Instituto
Politécnico Nacional, Ciudad de México,
México

²Laboratorio de Bioquímica Microbiana,
Departamento de Microbiología, Escuela
Nacional de Ciencias Biológicas, Instituto
Politécnico Nacional, Ciudad de México,
México

³Laboratorio de Genética Microbiana,
Departamento de Microbiología, Escuela
Nacional de Ciencias Biológicas, Instituto
Politécnico Nacional, Ciudad de México,
México

Correspondence

Graciela Castro-Escarpulli, Laboratorio de

Gram-negative bacteria have mechanisms through which they can colonize and survive in different environments, such as the secretion systems types (1-6) that have been widely studied and characterized. Nowadays, some authors have proposed extracellular structures, such as the outer membrane vesicles (OMVs), to be considered as an additional and independent secretion system. The OMVs are spherical particles of 50-250 nm in diameter; they originate in the outer membrane, and therefore they have a very similar composition to the latter. These particles can transport an important variety of biomolecules: enzymes, toxins, antigenic determinants and even nucleic acids. Thus, it is of great interest to collect data describing the advantages of the transport of biomolecules through the OMVs and, thus, determine their role as a potential secretion system.

KEYWORDS

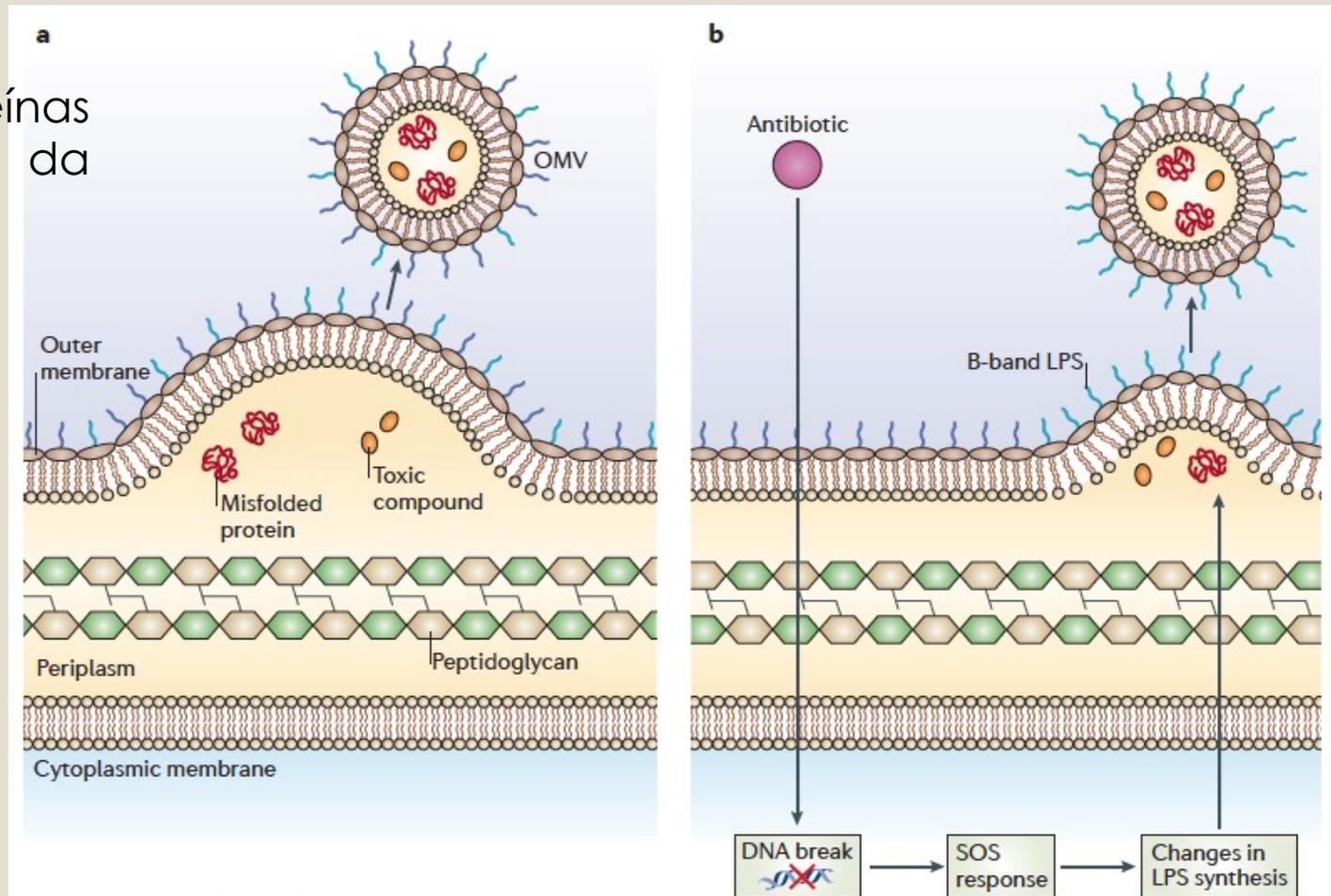
bacteria, outer membrane vesicles, secretion system, virulence factor

Algumas funções das OMV

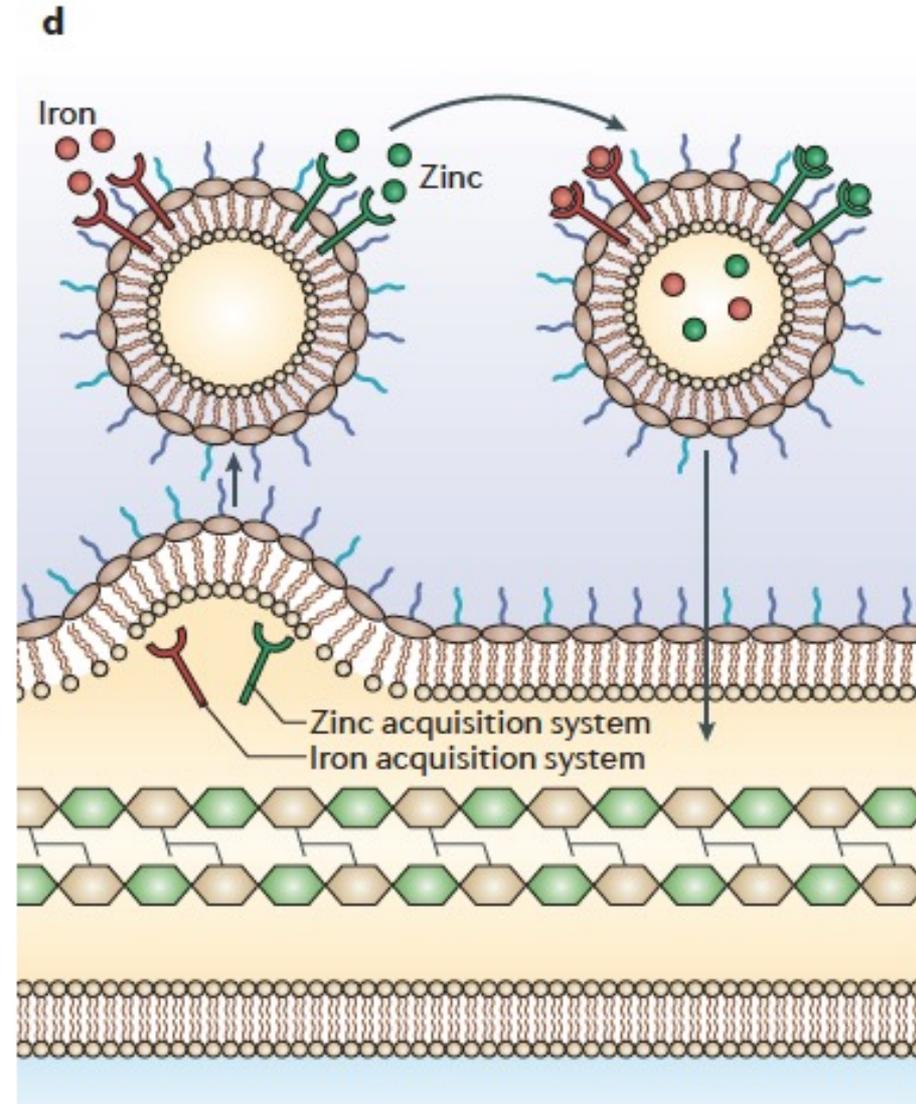
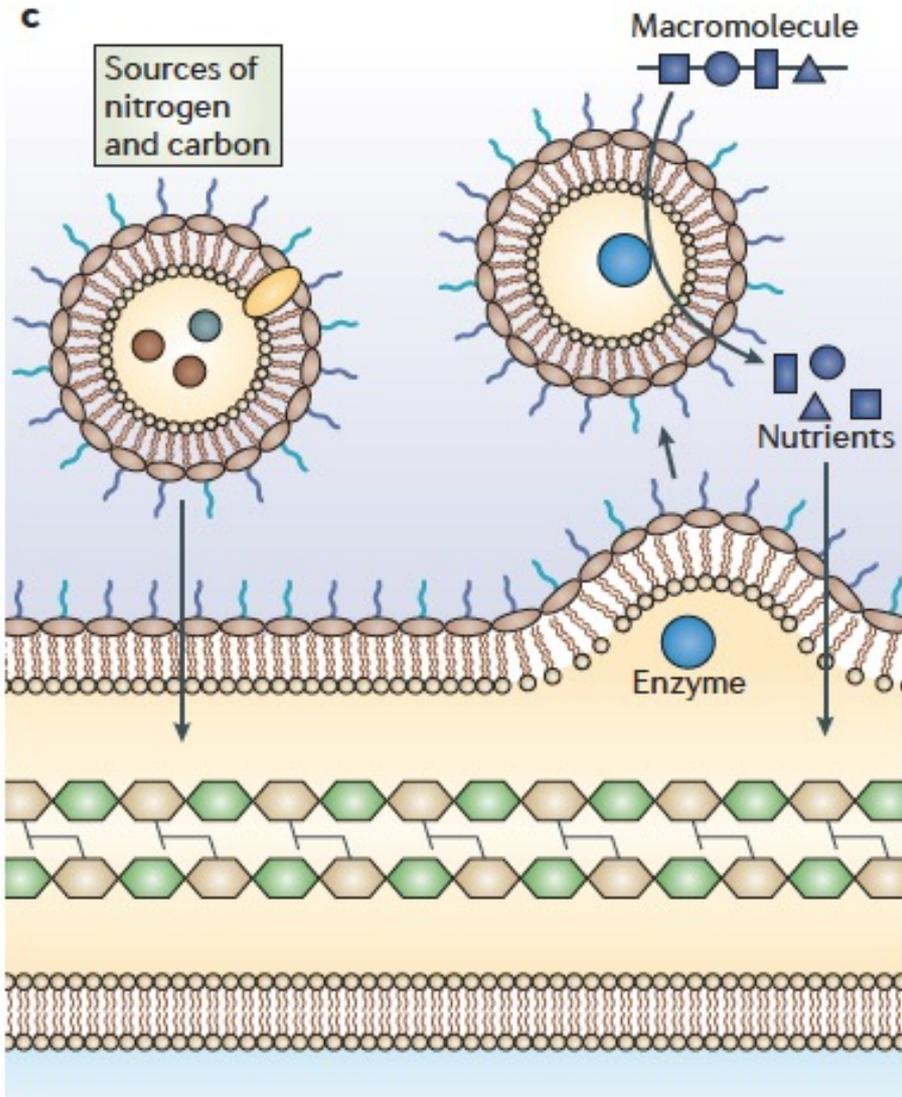
Promover a sobrevivência bacteria
ex: Remover comp. tóxicos

- Condições de estress produz OMV

- Remover proteínas desenoveladas da célula



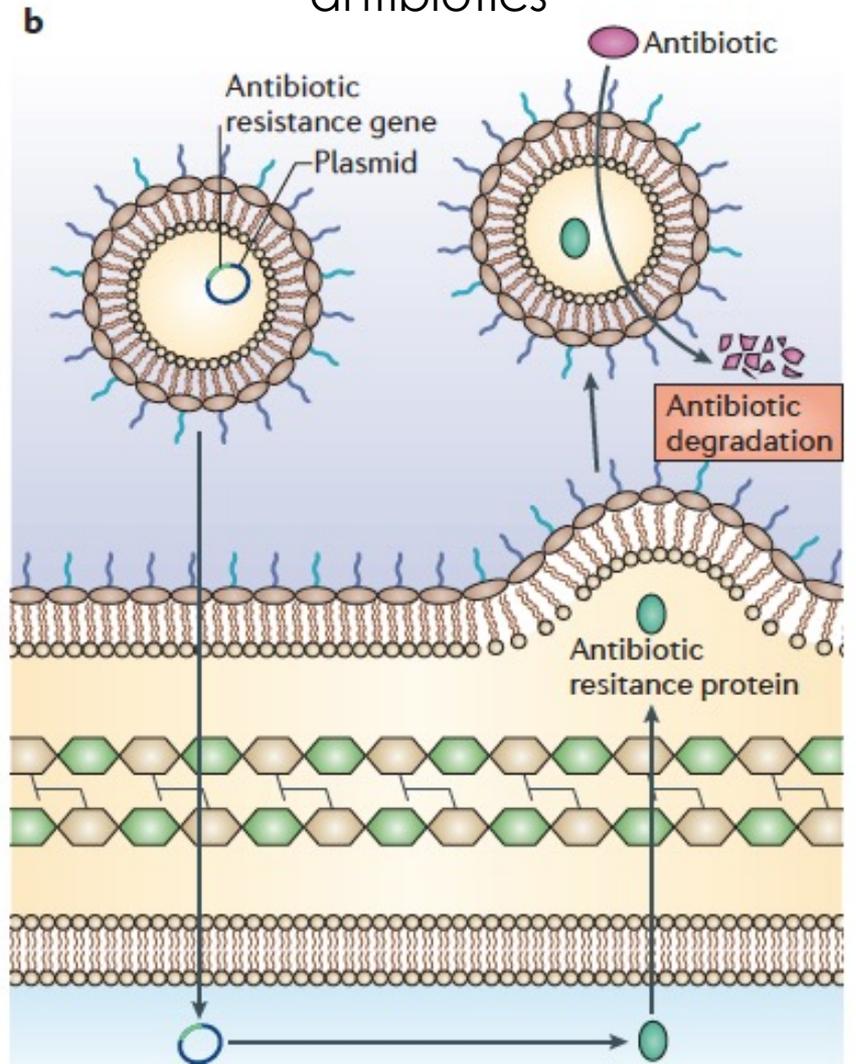
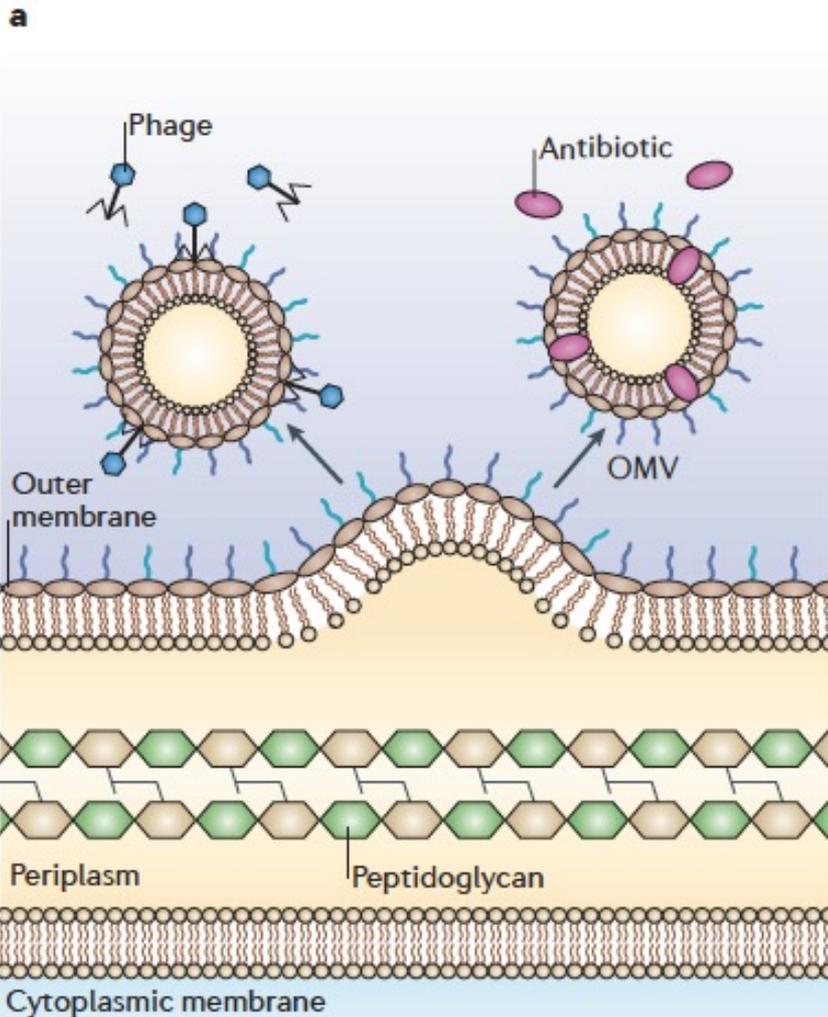
Algumas funções das OMV



OMV can increase Bacterial Pathogenicity

Increase bacterial resistance to antibiotics and phages

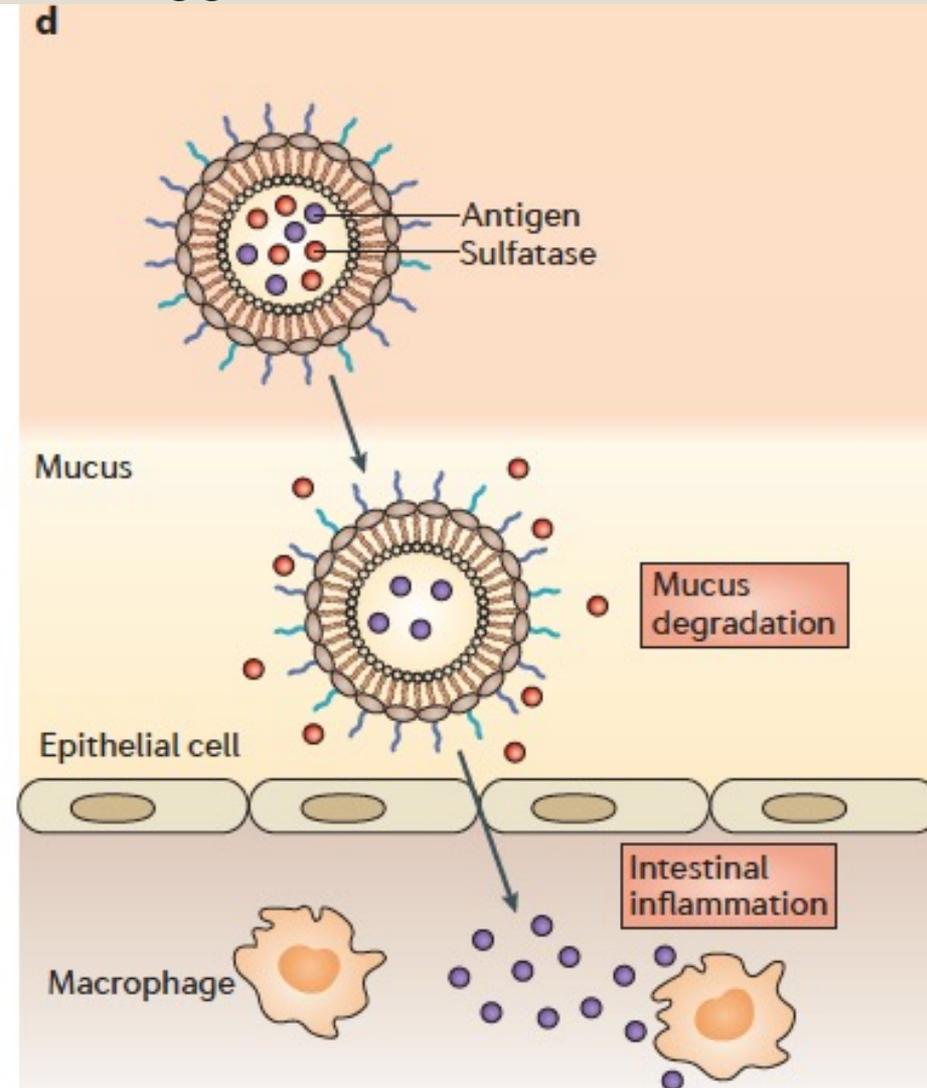
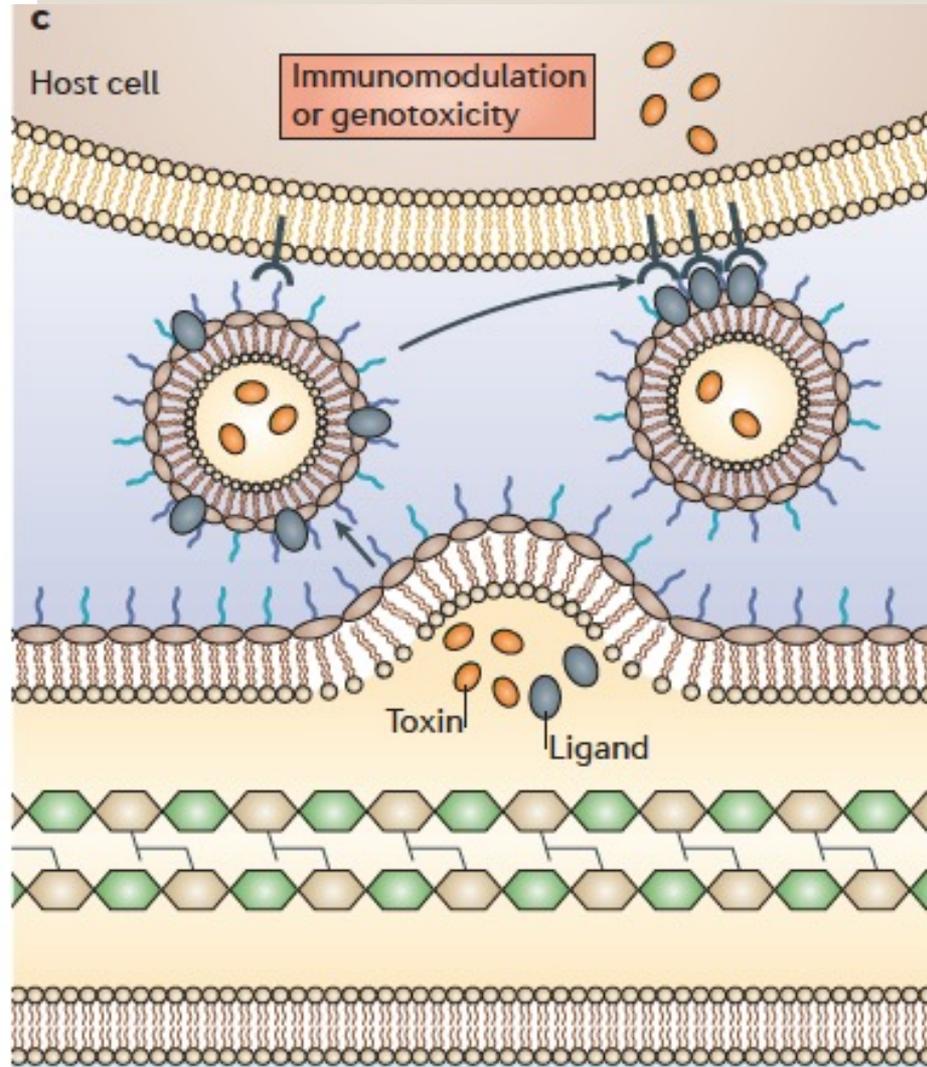
Transfer DNA between cells, carry enzymes that degrade antibiotics



Interact with host cells during infection

Ex. delivery of virulence factors or immune cells

cross the mucus barrier in the gut and reach the intestinal epithelium, delivering bacterial antigens to the underlying macrophages, which triggers intestinal inflammation.



Novos Sistem

Outer Membrane Vesicles Gram-Negative Bacteria Combat Against Microbes

Rakesh C. YashRoy

ICAR—Indian Veterinary Research Institute, Bareilly, India

Cell

Volume 144
Number 4

February 18, 2011

www.cell.com

Nanotubes Bridge Neighboring Bacteria
Central Dogma—One Molecule at a Time



Fim.

Obrigada pela atenção !

