

Figure 1: Cycle commensal de *N.meningitidis*

A. N. meningitidis adhère aux cellules non ciliées de la muqueuse nasopharyngée. Cette adhésion initiale dépend principalement de la présence de pili. **B.** La présence de la bactérie induit une réorganisation des microvilli épithéliaux, ceux-ci s'allongent au contact de la bactérie. Les bactéries se multiplient et forment une microcolonie compacte à la surface de la cellule. **C.** Après plusieurs heures, il y a réduction de la quantité de pili, les bactéries adhèrent alors en monocouche à la surface de la cellule. Cette adhésion est associée à des dommages structuraux sur les cellules épithéliales, notamment à une disparition des microvilli des cellules épithéliales. La perte de pili pourrait permettre le décrochage et le réensemencement des bactéries. Certaines bactéries peuvent s'internaliser. (Photos adaptées de (Stephens *et al.*, 1986) et (Pujol *et al.*, 1997)).

Modulation des antigènes de surface

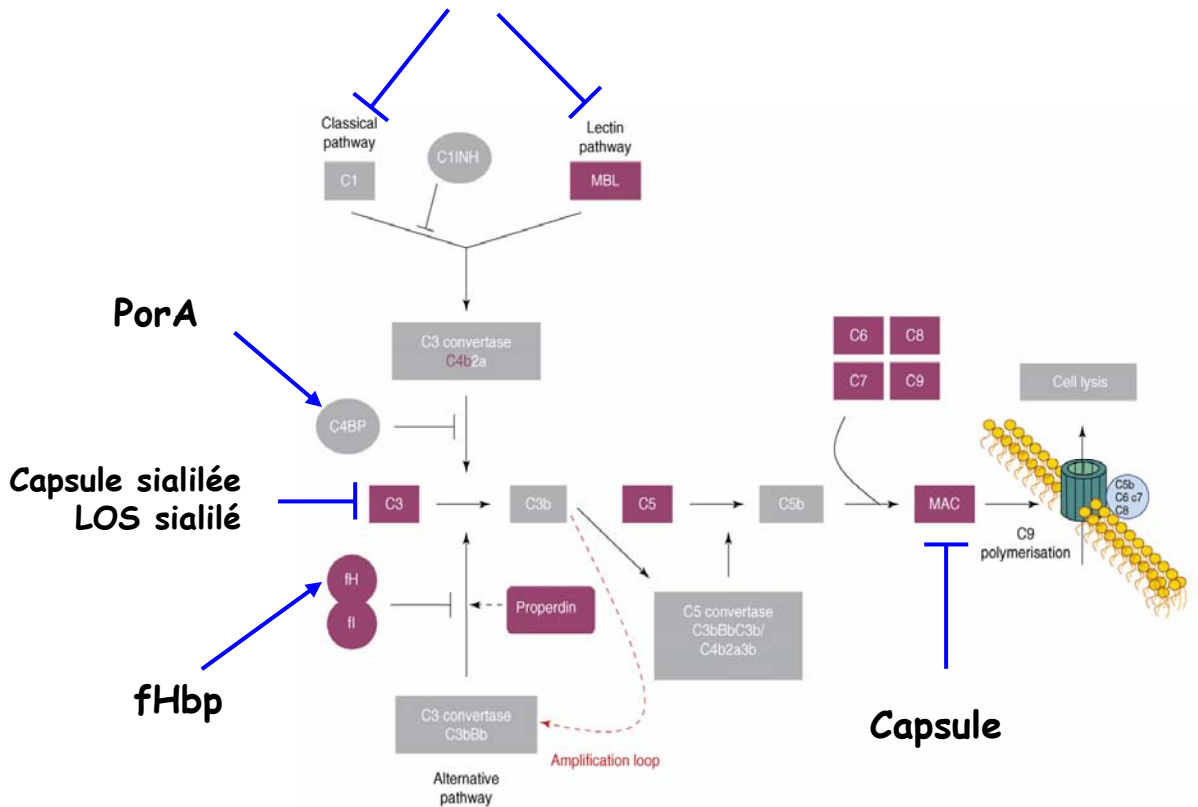
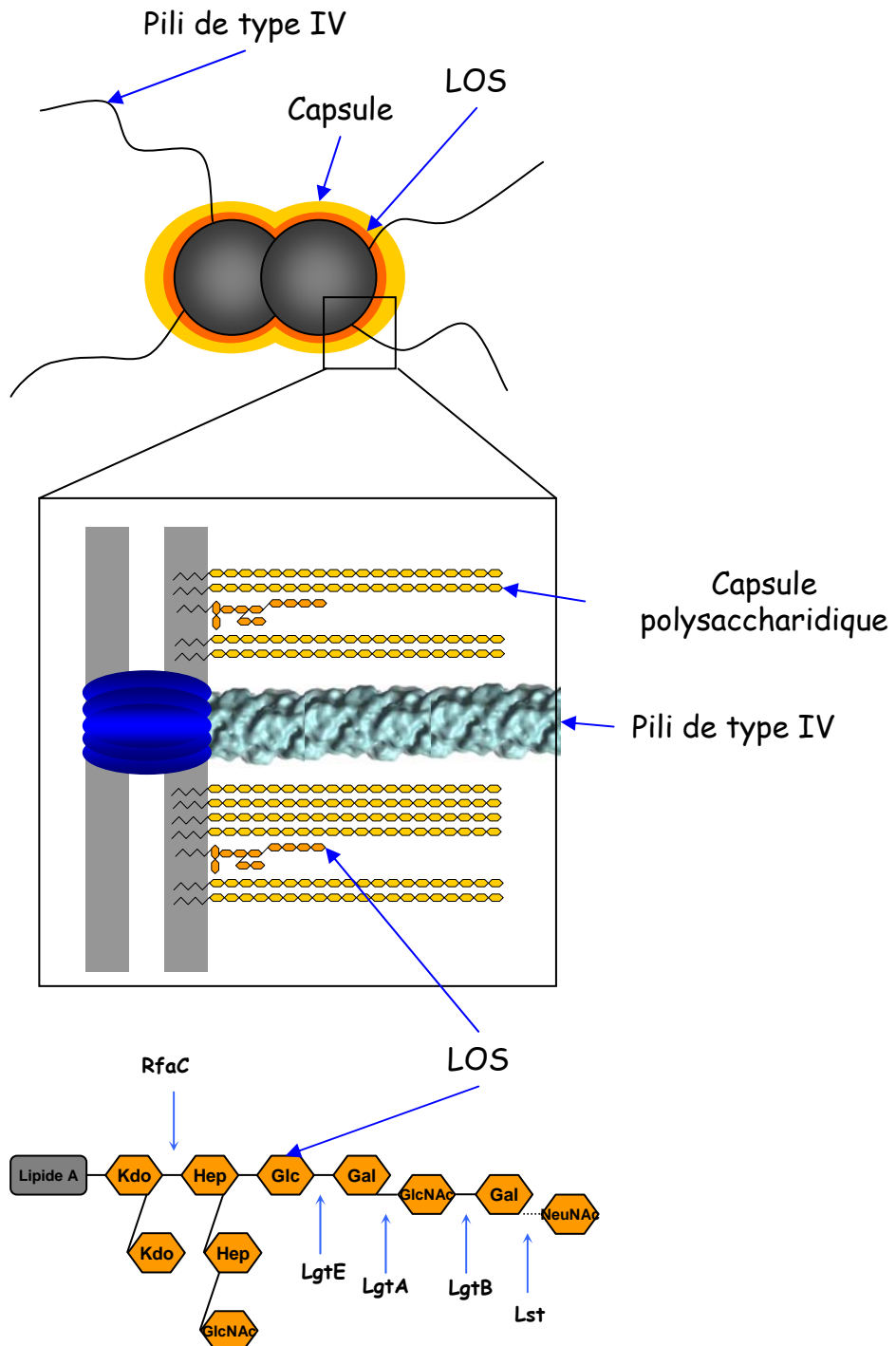


Figure 2 : Système du complément et modèle de sa régulation par le méningocoque.

Les trois voies d'activation du complément, voie classique, voie des lectines et voie alternative, convergent au niveau de l'activation de la protéine C3. Suite à l'activation de C3, une cascade protéolytique aboutie à la formation d'un complexe MAC, capable de s'insérer dans la membrane plasmique de la bactérie. Ce complexe MAC forme un pore dans la membrane qui conduit à la lyse de la bactérie. Le méningocoque est capable d'éviter ou d'inhiber chacune des trois voies d'activation du système du complément ainsi que l'insertion du complexe MAC. Les structures ou molécules bactériennes impliquées dans la régulation du système sont indiquées sur le schéma. Adapté de *Schneider et al., 2007*.



Structure des lipopolysaccharides L3, L7 et L9

Figure 3 : Molécules de surface du méningocoque

Structure des Pt4 adaptée de *Craig et al.*, (2006), Les pili sont décrits en détails dans la suite. Structure du LOS adaptée de *Kurzai et al.*, (2005) ; Les enzymes connues sont représentés au niveau des liaisons qu'ils assurent.

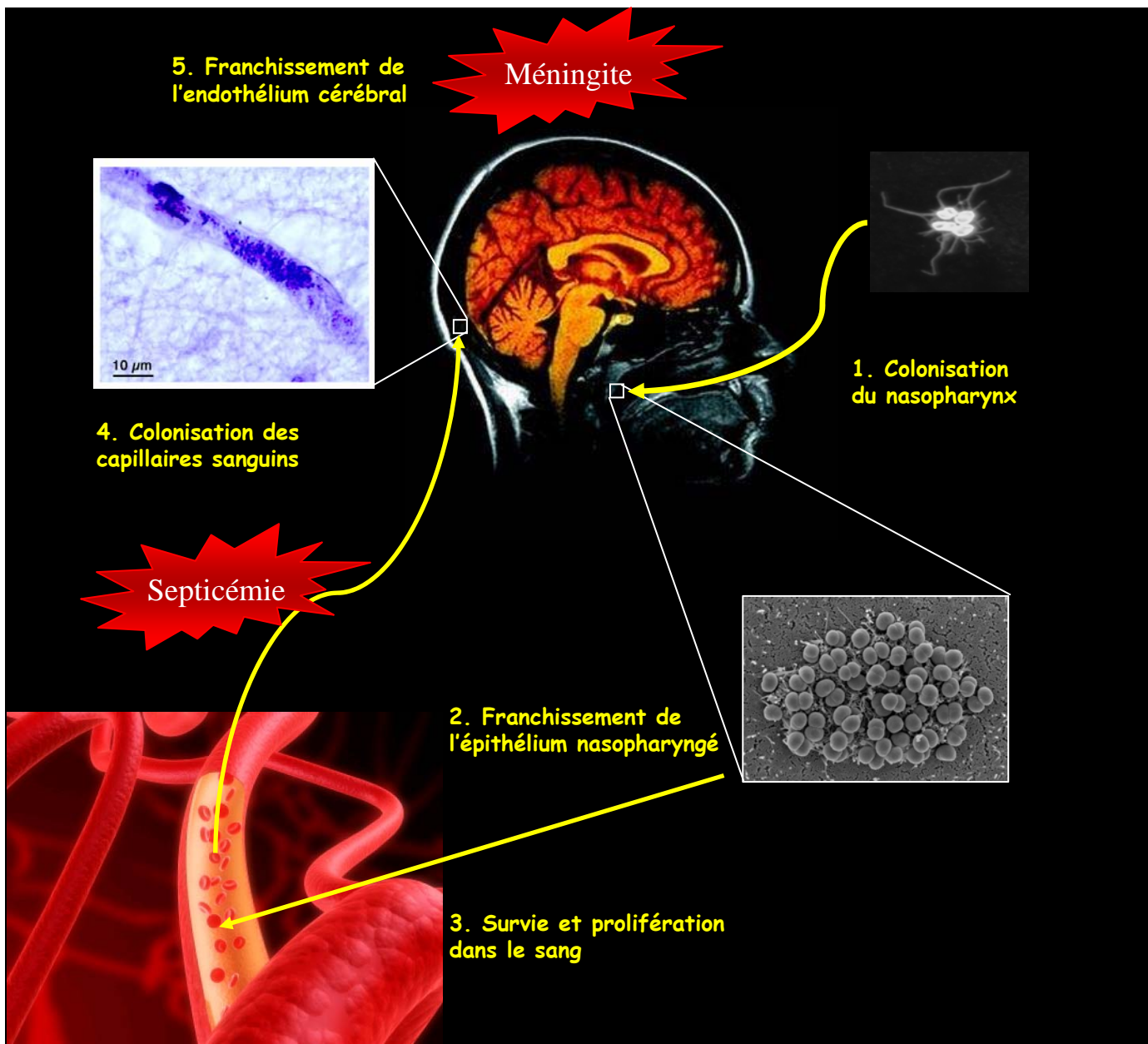


Figure 4 : Modèle de la pathogénèse du méningocoque

Après avoir colonisé le nasopharynx, le méningocoque franchit l'épithélium et rejoint la circulation sanguine. Il survit au système immunitaire local et prolifère. Il peut alors déclencher une septicémie et le *purpura fulminans*. La colonisation des capillaires cérébraux sanguins permet le franchissement de la BHE et déclenche la méningite.

(Vaisseaux sanguins: www.maxiscience.com; colonie colorée au gram-weigert adaptée de Mairey et al., (2007))

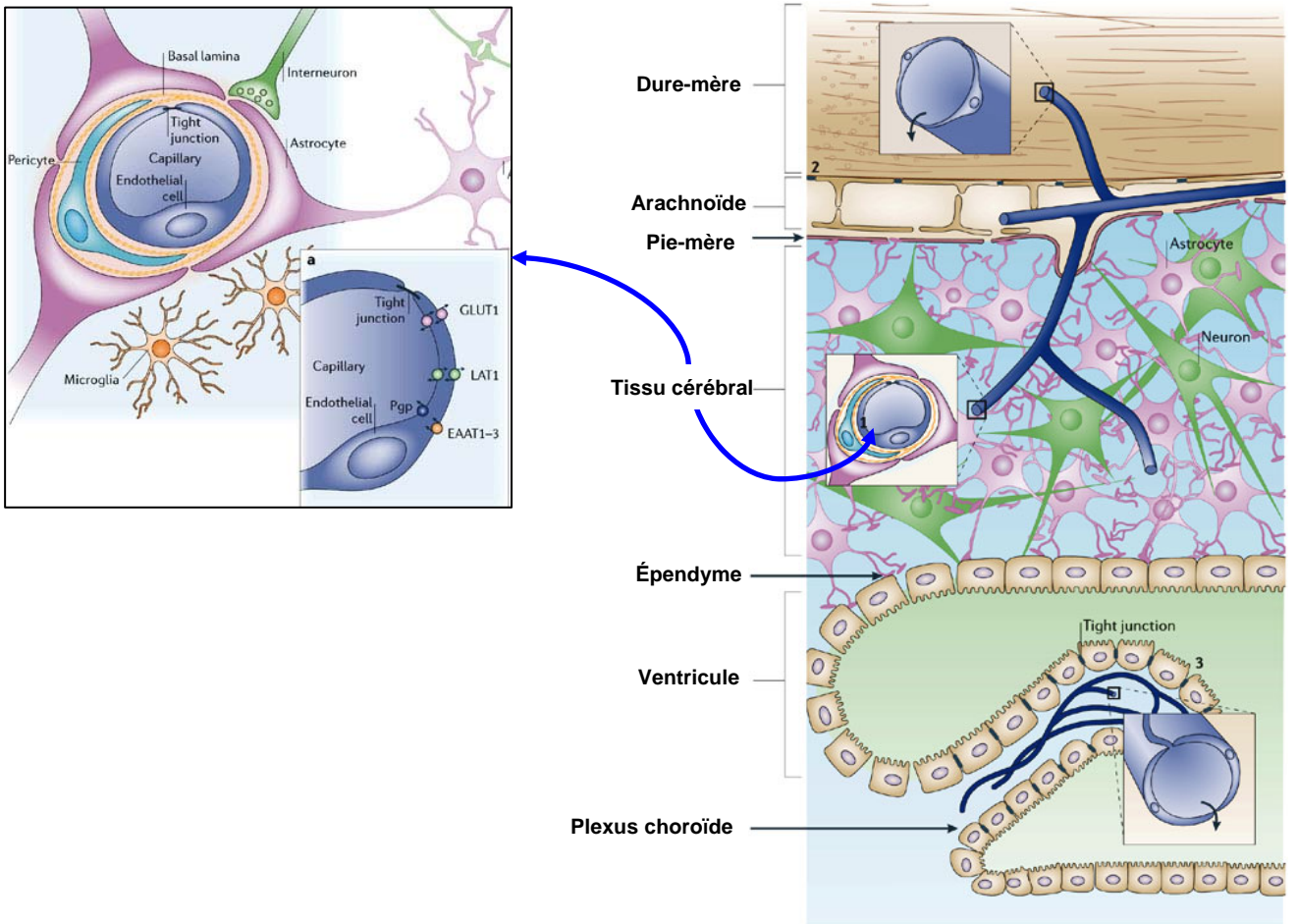


Figure 5 : Structure de la barrière hémato-encéphalique
(adapté de *Abbott et al., 2006*)

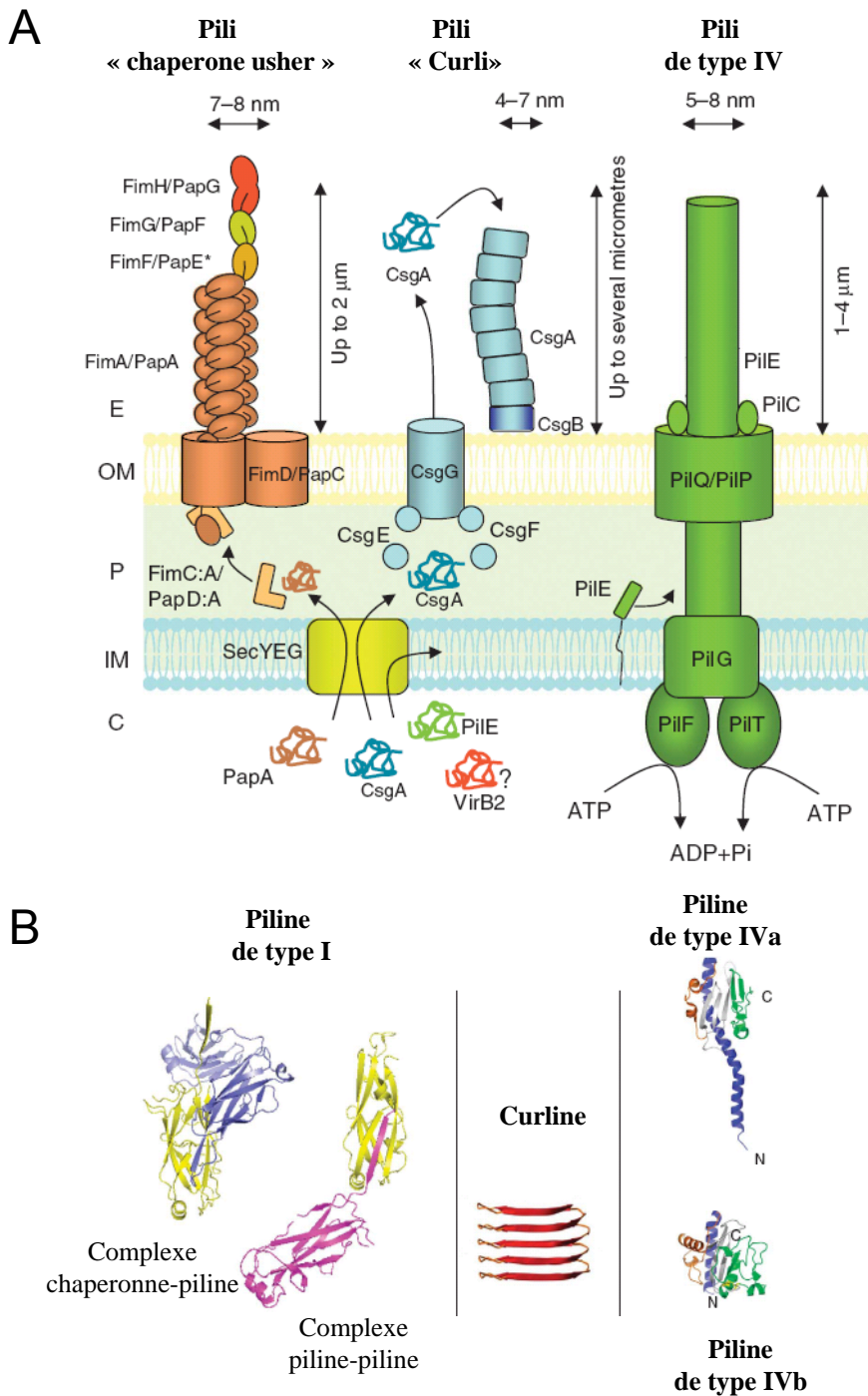


Figure 6 : Pili des bactéries à Gram négatif.

A. Schéma des Pili des bactéries à Gram négatif et de leur machinerie de biosynthèse (adapté de *Fronzes et al., 2008*). A gauche, les Pili de type 1(Fim) ou le P Pili (Pap) de *Escherichia coli* appartiennent au groupe des « chaperone usher Pili ». Au centre les « curli Pili » de *E. Coli*. A droite, les Pili de type IV de *Neisseria gonorrhoeae*. Toutes les sous-unités sont sécrétées dans le périplasme par le système « Sec » puis assemblées par leurs machineries respectives en fibre. **B.** Représentation structurale des sous-unités des trois types de Pili. A gauche, un complexe chaperonne (PapD)-piline (PapA) et un complexe piline-piline (PapA-PapA) (*Verger et al., 2007*). Au centre, la structure hypothétique des curline CsgA et CsgB (*Barnhart & Chapman, 2006*). A droite, structures de la piline de type IVa de *N. gonorrhoeae* et de la région globulaire de la piline de type IVb de *Vibrio cholerae* (*Craig et al., 2003; Craig et al., 2006*).

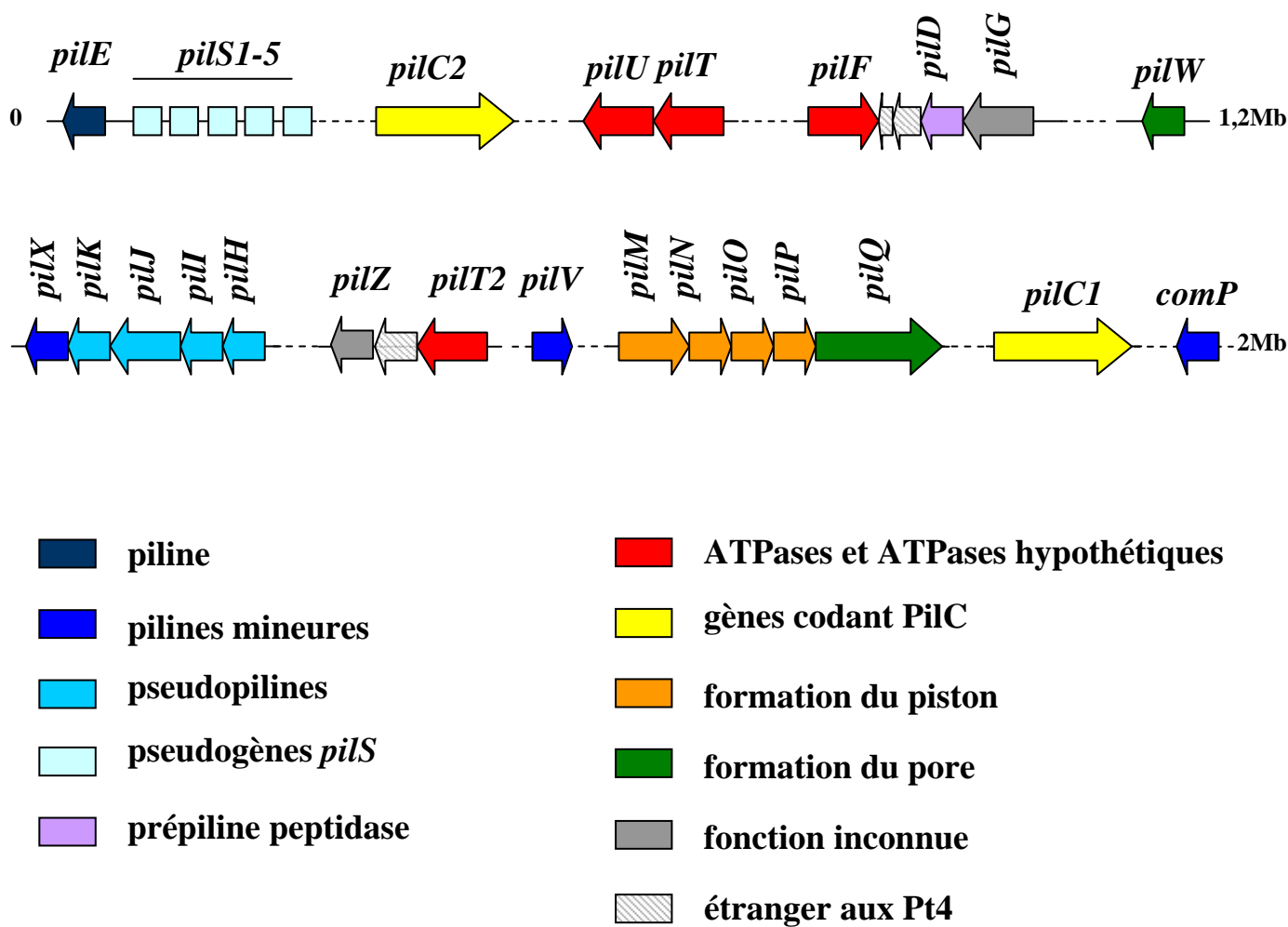


Figure 7 : Organisation génétique des gènes codant les protéines impliquées dans la biogenèse ou les fonctions des Pili de type IV dans la souche 2C43.

(Adapté de Pelicic, 2008).

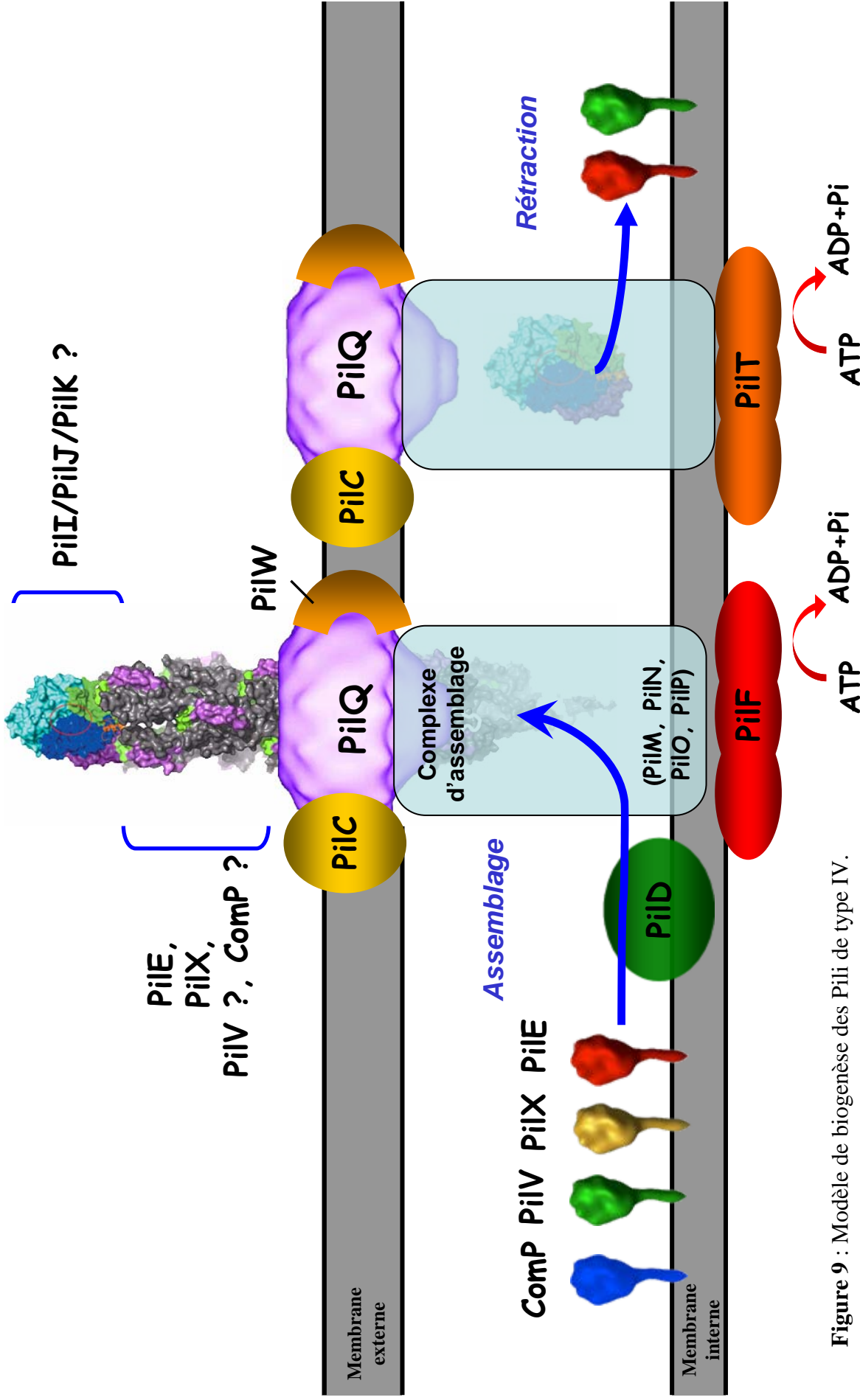


Figure 9 : Modèle de biogenèse des Pili de type IV.

La piline PilE et les pilines mineures (PilX, PilV et Comp) sont clivées par la prépiline peptidase (PilD) et assemblées en pilus sous l'action de PilF (pilines et pilus adaptés de *Craig et al., (2006)*). Une structure formée des pseudopilines PilL, PilJ et PilK forme peut-être l'apex du Pilus (adapté de *Korotkov & Hol, 2008*). Le pilus est extrudé à travers un pore formé de PilQ et stabilisé par PilW (adapté de *Collins et al., 2003*). La fibre est rétractée sous l'action de PilT.

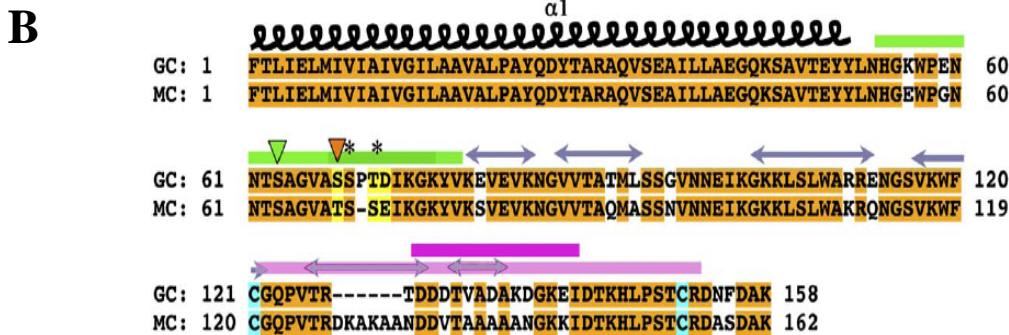
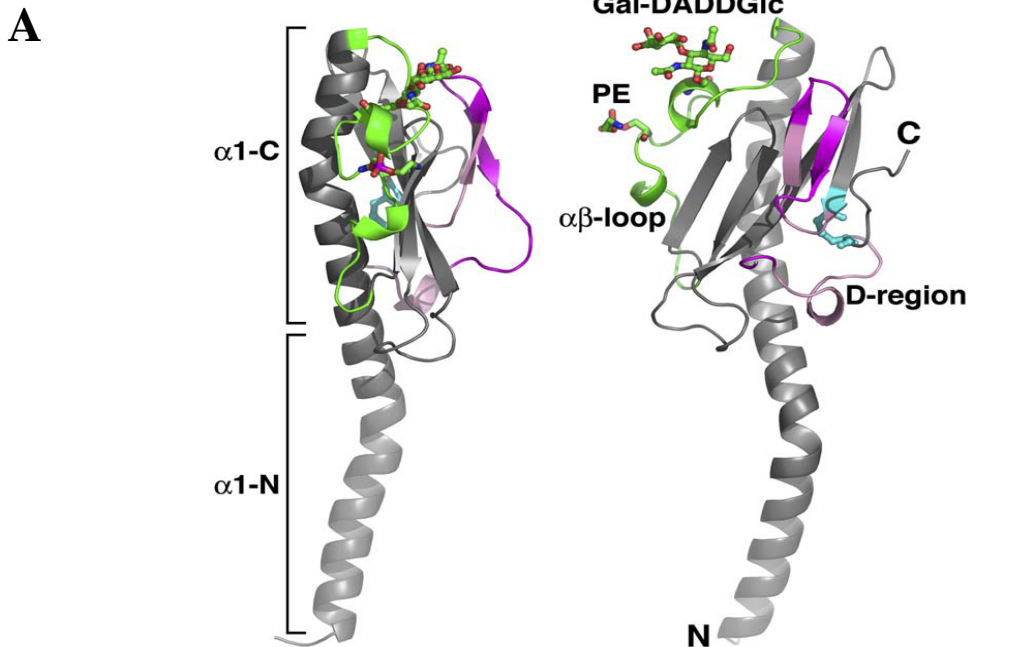


Figure 8 : Structure et séquence de la piline de *N. gonorrhoeae*.

A. Structure de la piline du gonocoque (établie par *Craig et al., 2006*). Vue de profil (à gauche) et de face (à droite). La structure forme une longue hélice α hydrophobe ($\alpha 1$) et une région globulaire. Les régions conservées entre les pilines des différentes espèces sont représentées en gris. La région $\alpha\beta$ ($\alpha\beta$ -loop) est représentée en vert, les modifications post-traductionnelles sont figurées sur les sérines en position 63 et 68 (Gal-DATDH et Phosphoéthanolamine PE). La région disulfure est indiquée (D-region). **B.** Séquence des pilines PilE du gonocoque (GC) et du méningocoque (MC). Les structures secondaires sont figurées au dessus des séquences (doubles flèches magenta pour les feuillettes β). La région disulfure hypervariable est représentée en rose. Les positions des modifications post-traductionnelles sont marquées par des triangles.

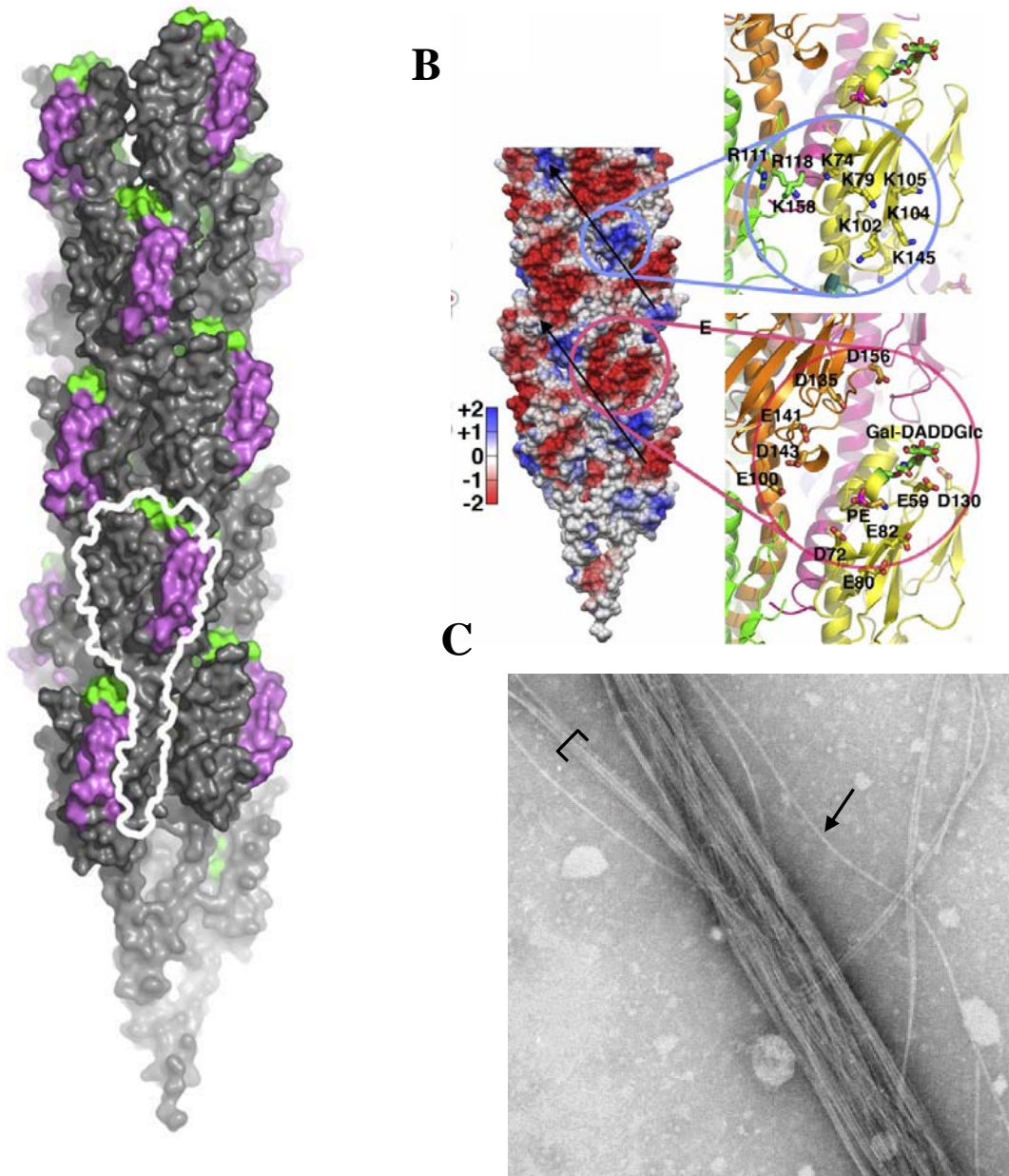


Figure 10 : Modèle de la structure des Pili de type IV et bundle.

A. Représentation de la structure du Pilus de *N. gonorrhoeae* basée sur la structure de la piline et la cryomicroscopie (proposé par *Craig et al., 2006*). La fibre est hélicoïdale avec un pas de 3,6 pilines par tour. Les hélice α hydrophobes sont enroulées au centre de la fibre, la région globulaire forme la partie externe. Les région $\alpha\beta$ (en vert) et disulfure (en violet) sont exposées à la surface de la fibre. **B.** Représentation des charges électriques à la surface du Pilus. Les zones chargées positivement (en bleu) forment un patch entouré de régions chargées négativement (en rouge). Cette disposition des charges est impliquée dans la formation des bundles (adapté de *Craig et al., 2006*). **C.** Photographie en microscopie électronique à transmission de bundles de pili. Les pili s'accrochent les uns aux autres et forment des bundles. On peut observer des pili seuls (flèche) et des bundles d'une dizaine de pili (encarre) formant un bundle plus important. (adapté de *Pellic, 2008*).

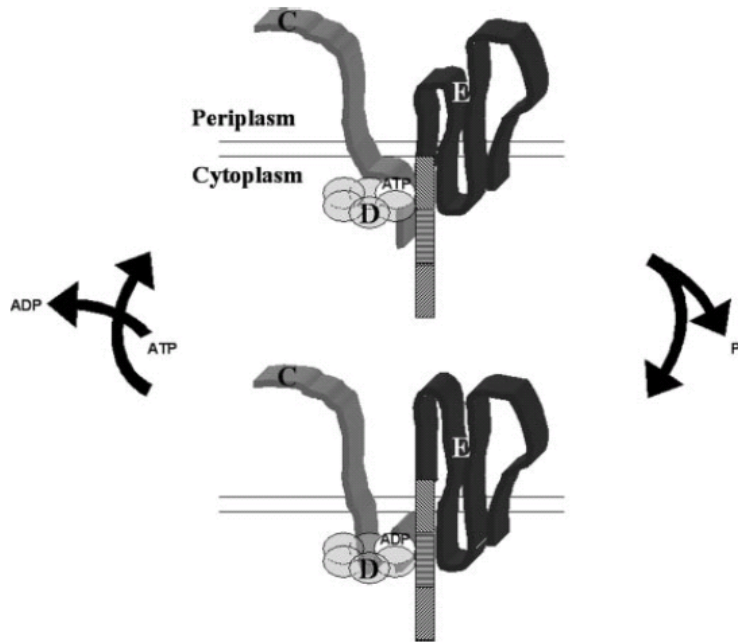
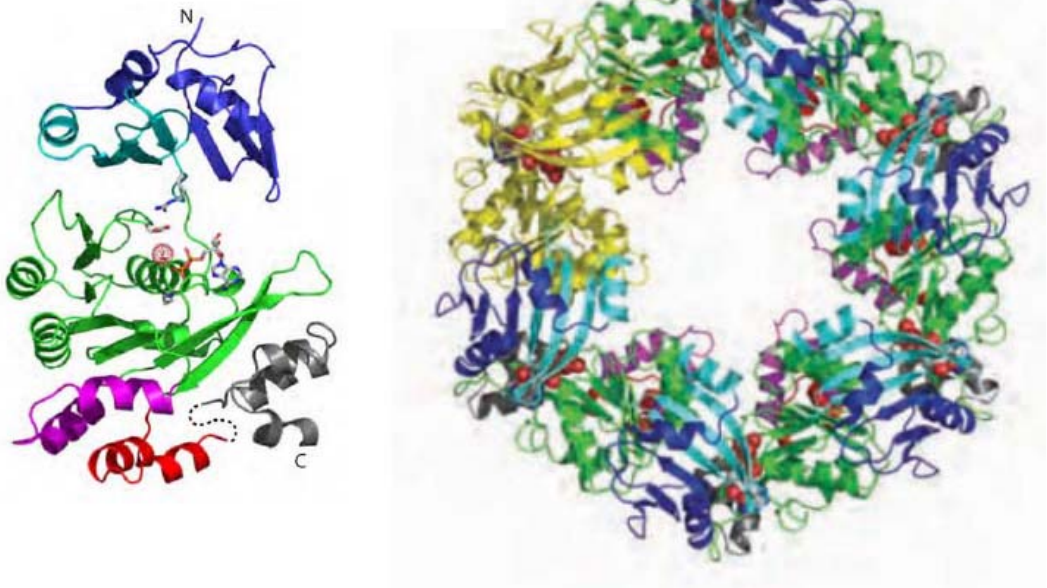
A**B**

Figure 11 : Modèle et structure des AAA ATPases.

A. Modèle du fonctionnement d'un hexamère de BfpD, homologue de PilF dans les BFP de *E. coli*, en interaction avec BfpC (pas d'homologue connu) et BfpE (homologue de PilG). L'hydrolyse d'un ATP permettrait un changement de conformation du complexe suffisant pour incorporer une piline dans la fibre (adapté de Crowther *et al.*, 2005). **B.** Structure de la protéine PilT d'*Aquifex aeolicus* (à gauche) et d'un hexamère de PilT (à droite) (adapté de Satyshur *et al.*, 2007).

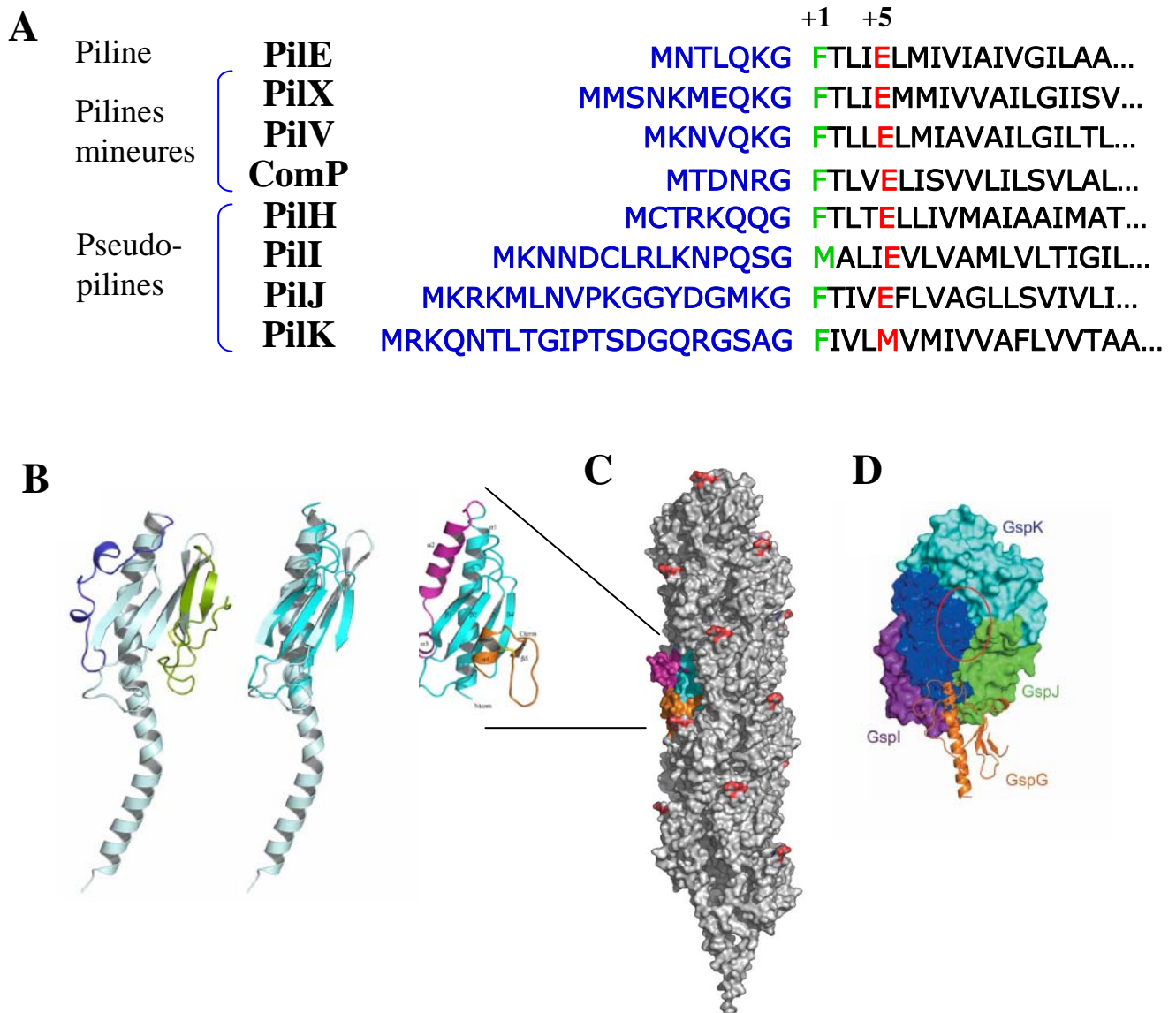
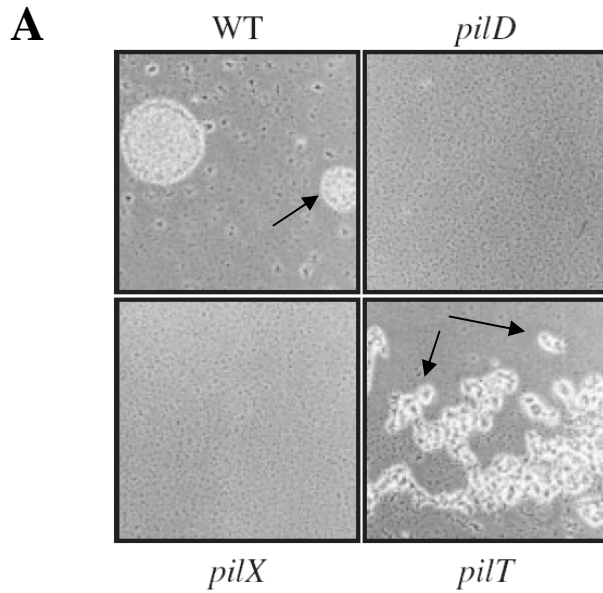


Figure 12 : Modèle et structures des pilines mineures et pseudopilines.

A. Séquences N-terminales des différentes pilines de *N. meningitidis*. La séquence signal de clivage par la prépiline peptidase PilD est représentée en bleu, le premier acide aminé des protéines matures en vert et un glutamate essentiel à la maturation en rouge. **B.** Comparaison des structures de la piline PilE (à gauche) et de PilX (à droite). La région $\alpha\beta$ de PilE est représentée en bleu, celle de PilX en magenta. La région disulfure de PilE est colorée en vert, celle de PilX en orange. Au centre, superposition des structures similaires (PilE en gris et PilX en cyan) (adapté de *Helaine et al., 2007*). **C.** Modèle d'incorporation de PilX dans les Pili, les régions exposées de la protéine sont colorées (région $\alpha\beta$ en magenta et région disulfure en orange) (adapté de *Helaine et al., 2007*). **D.** Modèle de structure du complexe formé par les protéines GspI (magenta), GspJ (vert), GspK (cyan et bleu) du SST2 de *E. coli*, protéines orthologues de PilI, PilJ et PilK. Cette structure serait à l'apex du piston du système, la pseudopiline majeur GspG (orange) pourrait s'assembler dessous (adapté de *Korotkov & Hol, 2008*).



B

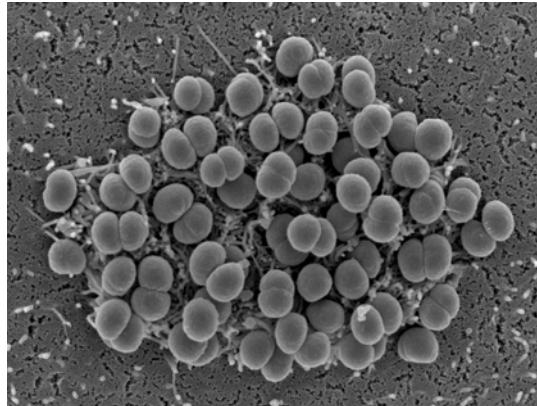


Figure 13 : Agrégats de *N. meningitidis*.

A. Agrégats de méningocoques en suspension (flèches). Un mutant n'exprimant plus de pili (*pilD*) ou n'exprimant pas PilX ne forme plus d'agrégats. Les agrégats formés par un mutant de *pilT* sont organisés différemment de ceux formés par la souche de référence (WT), la rétraction est importante dans la structuration de l'agrégat (adapté de *Helaine et al., 2005*). **B.** Agrégat bactérien, ou microcolonie, sur cellule épithéliale humaine. Cette microcolonie n'est formée que par des bactéries capables de former des agrégats en suspension.

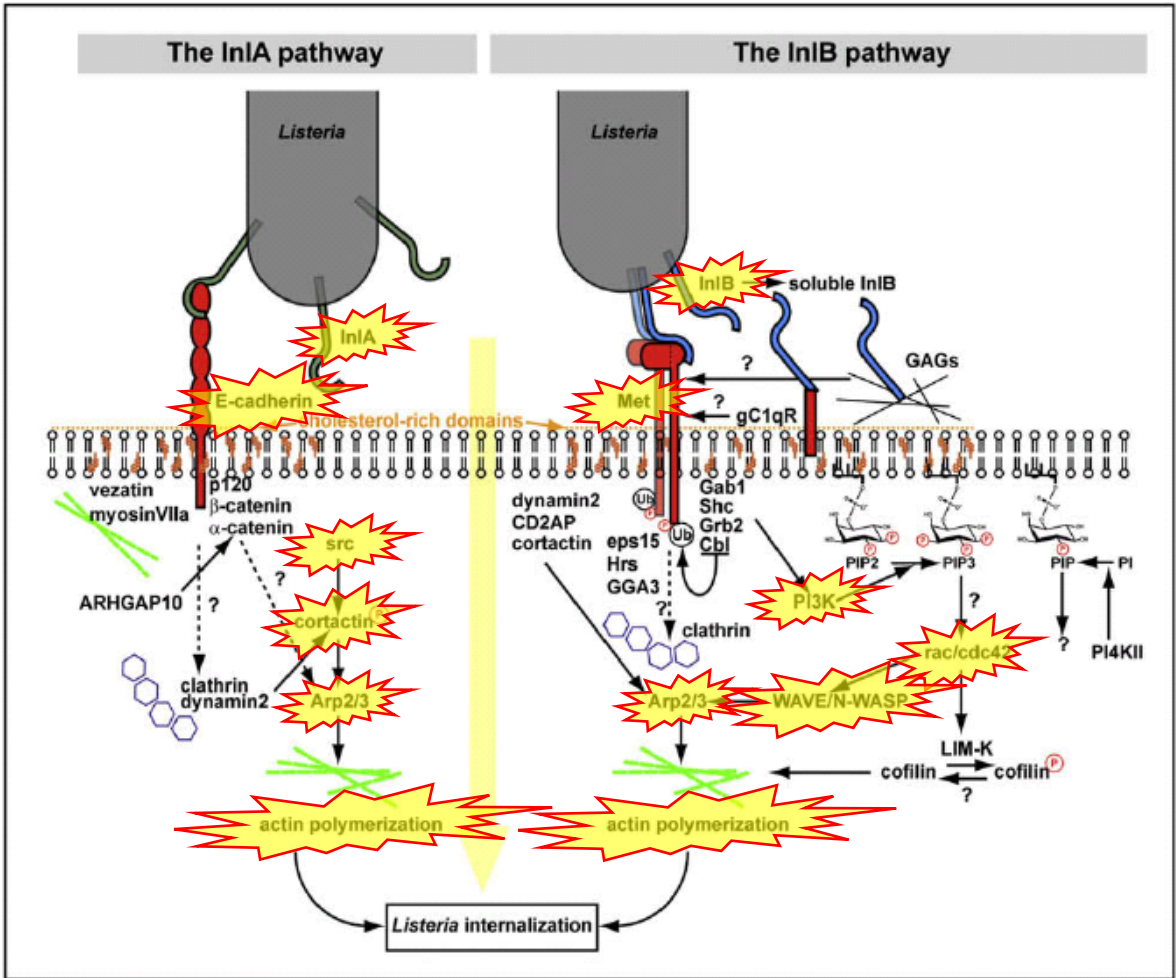


Figure 14 : Réorganisation du cytosquelette d'actine induite par *Listeria monocytogenes*. Voies de signalisation activées par *Listeria* selon l'internaline InA ou InB, les voies de signalisation sont activées depuis l'extérieur de la cellule. Les voies décrites sont indiquées encadrées en rouge, surlignées en jaune (adapté de Cossart & Toledo-Arana, 2008).

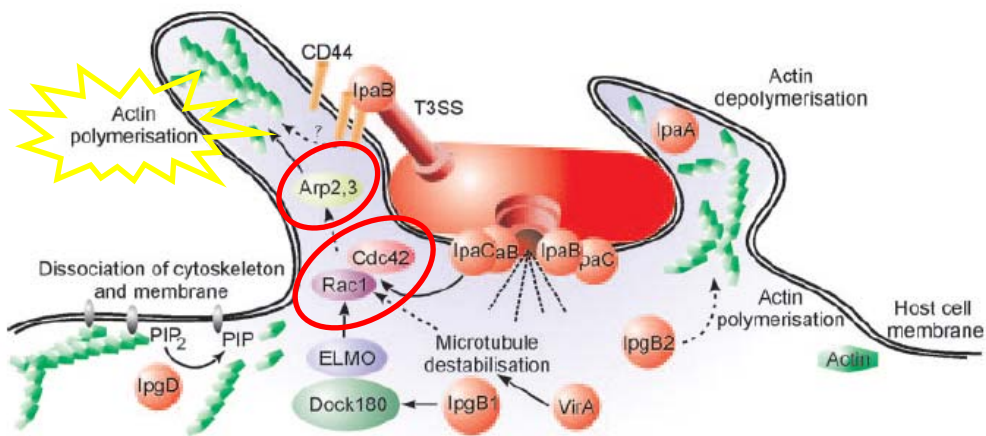


Figure 15 : Réorganisation du cytosquelette d'actine induite par *Shigella flexneri*.
 Voies de signalisation activées par *S. flexneri*. Les effecteurs moléculaires sont injectés directement dans le cytoplasme de la cellule cible. Les voies décrites sont encadrées en rouge (adapté de Schroeder & Hilbi ; 2008).

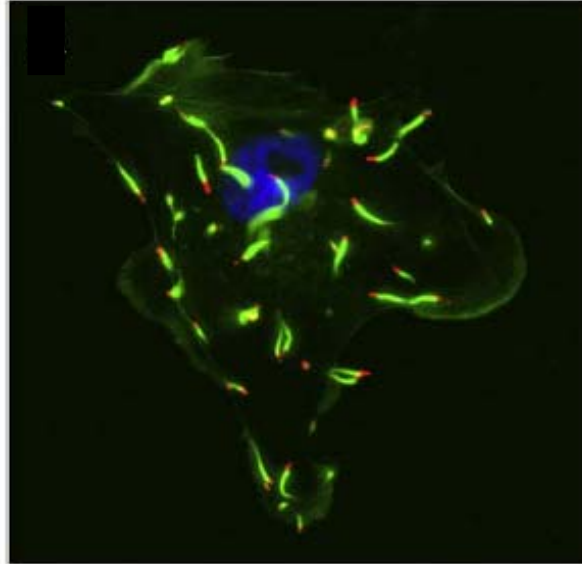
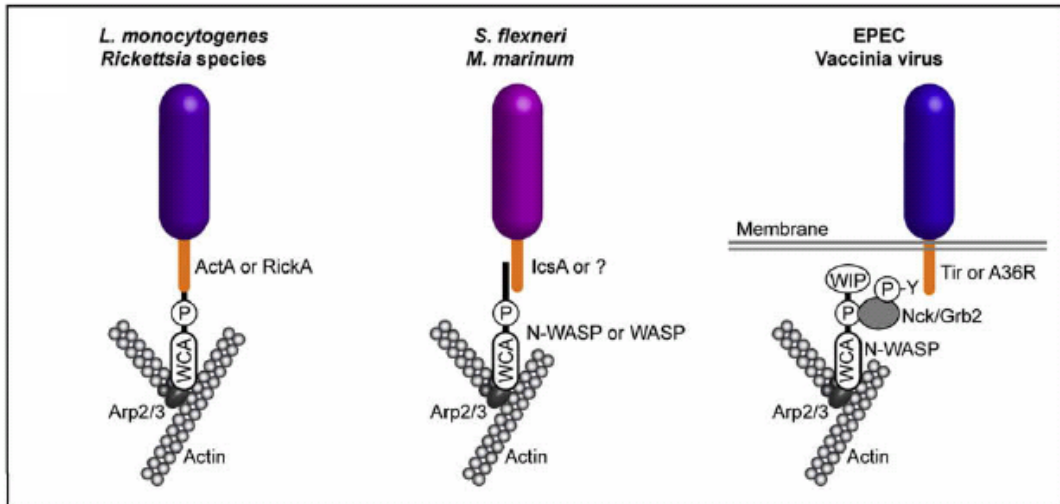
A**B**

Figure 16 : Utilisation du cytosquelette d'actine pour la motilité bactérienne et l'ancrage à la membrane.

A. Comètes d'actine visualisées par fluorescence après infection de cellules par *Listeria*.

B. Voies de signalisation activées par les EPEC depuis l'extérieur de la cellule (à droite) ou par *Listeria* et *Shigella* depuis l'intérieur de la cellule pour la motilité des bactéries dans le cytoplasme (adapté de *Cossart & Toledo-Arana; 2008*).

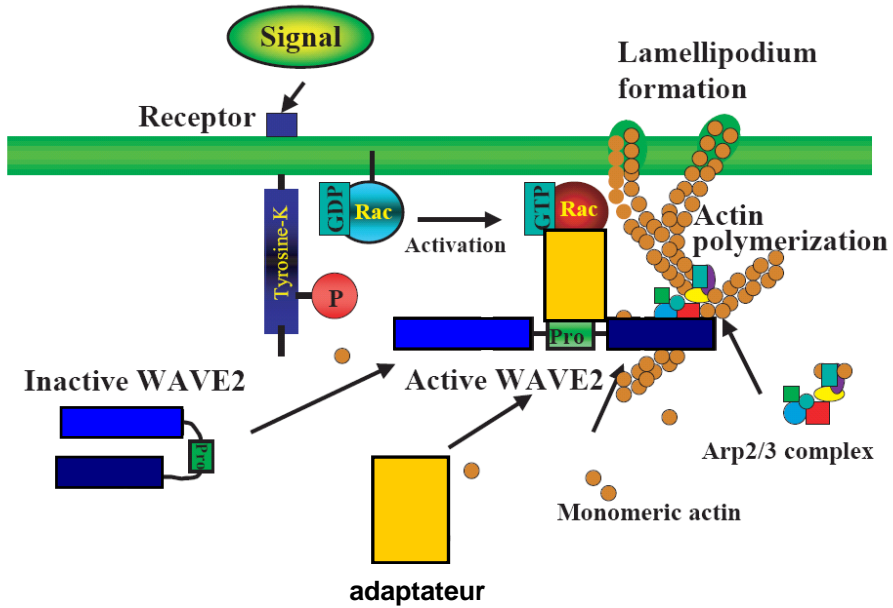
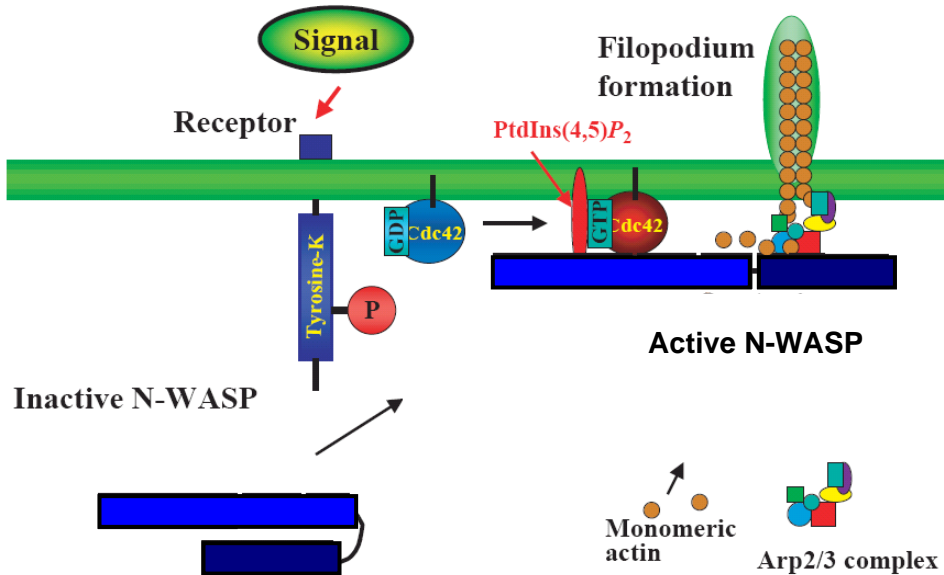
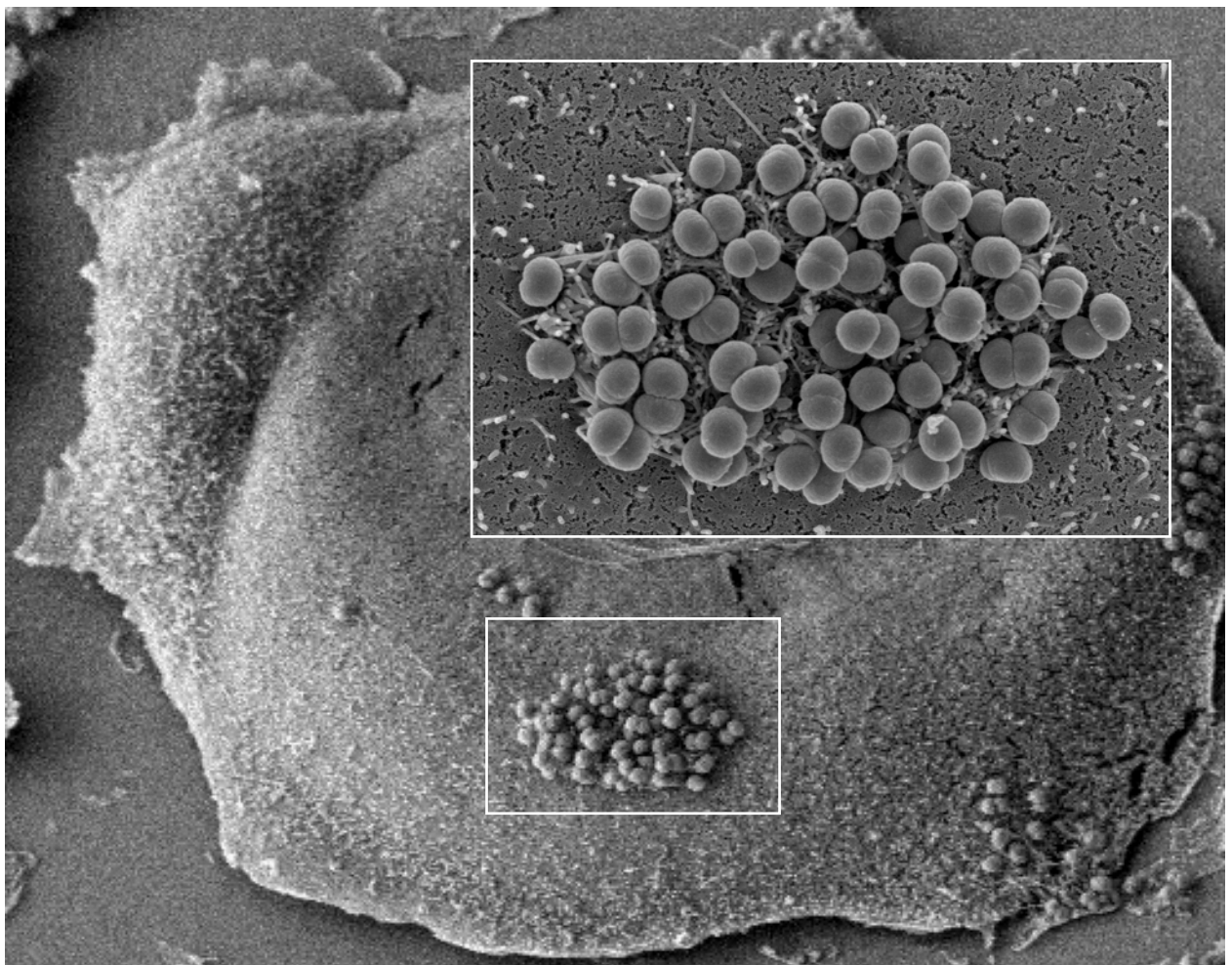
A**B**

Figure 17 : Modèles de remaniement du cytosquelette d'actine par les petites GTPases.

A. Modèle de formation des lamellipodes sous l'action de la petite GTPase Rac1 et de la protéine N-WAVE. **B.** Modèle de formation des filopodes sous l'action de la petite GTPase Cdc42 et de la protéine N-WASP (adaptés de *Takenawa & Miki; 2001*).

A



B

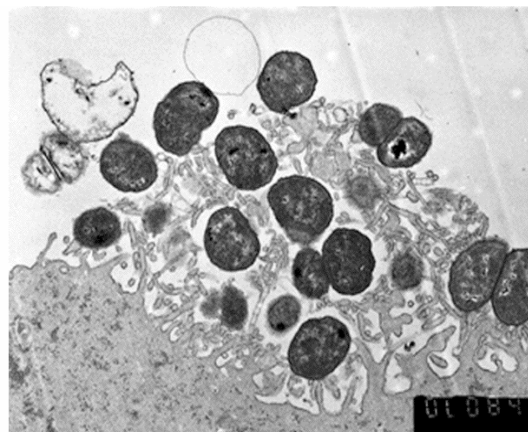
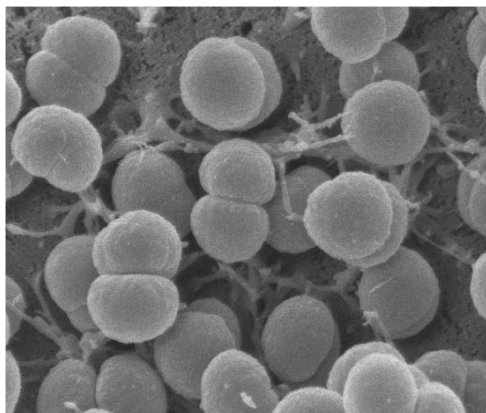
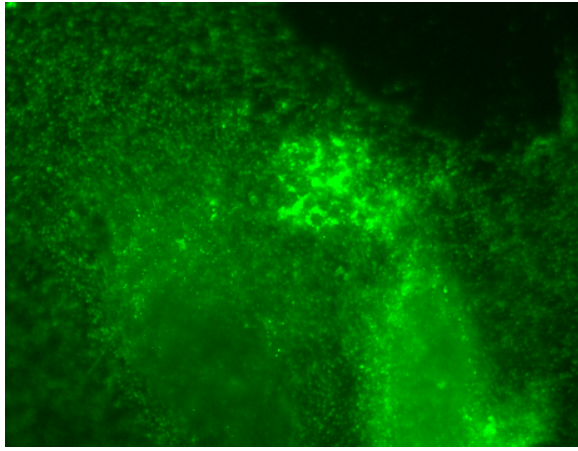


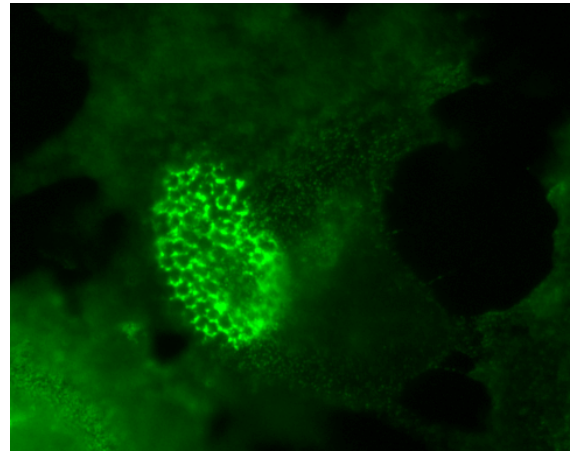
Figure 18 : Remodelage de la membrane plasmique induit par *N. meningitidis*.

A. Microcolonie de méningocoque sur cellule épithéliale visualisée en microscopie électronique à balayage. Dans le cadre, détail de la microcolonie, un allongement des microvili épithéliaux et une augmentation de leurs nombres est observable sous et autour des bactéries. **B.** Détail des projections membranaires observées sur cellules endothéliales en microscopie électronique à balayage (à gauche) et à transmission (à droite).

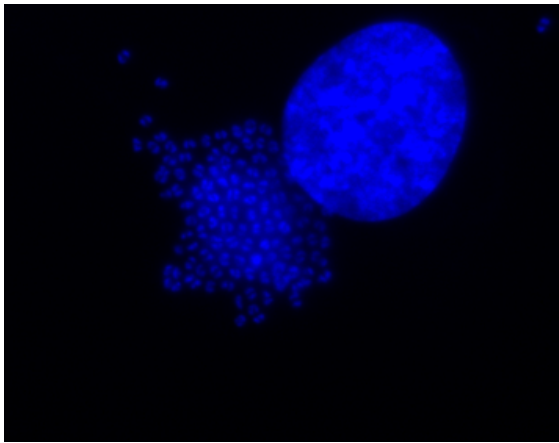


CD46

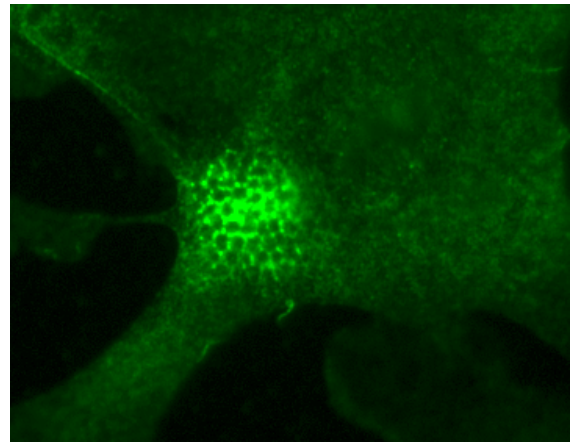
ICAM-1



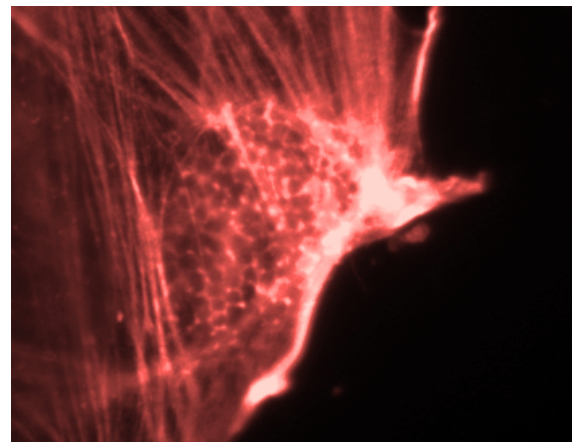
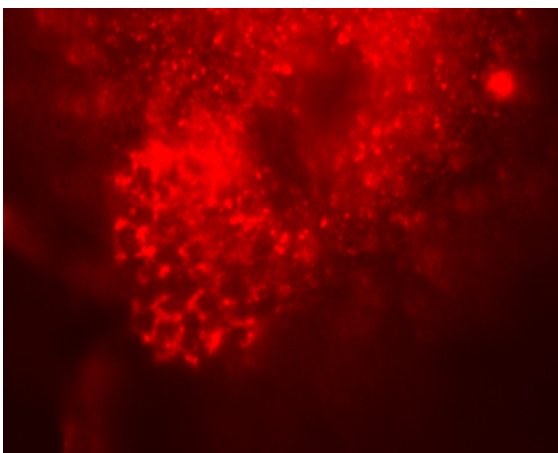
ADN



Ezrine



Cortactine



Actine

Figure 19 : Recrutement de la plaque corticale sous les microcolonies de *N. meningitidis*.

Au centre, marquage des bactéries au DAPI (gauche), et recrutement caractéristique d'ezrine en nid d'abeille sous la colonie (droite). En haut, recrutement en nid d'abeille des récepteurs membranaires CD46 (gauche) et ICAM-1 (droite). En bas, recrutement en nid d'abeille de l'actine (droite) et de Cortactine (gauche).

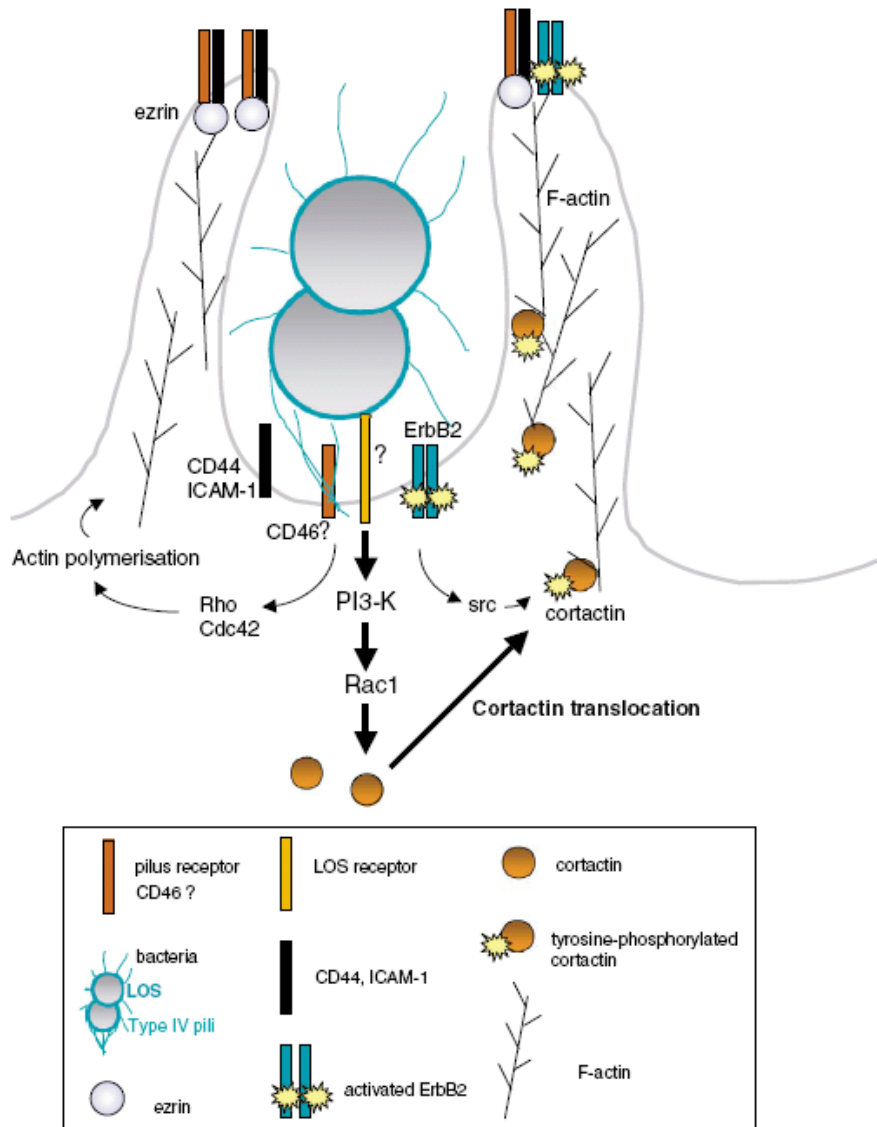


Figure 20 : Modèle des voies de signalisation activées par *N. meningitidis*.

Modèle proposé par *Lambotin et al.*, (2005). Le méningocoque interagit avec un récepteur inconnu et active une voie de signalisation dépendante des petites GTPases Rho et Cdc42, ce qui permet la polymérisation d'actine et la formation de projections membranaires autour des bactéries. Cette voie de signalisation est soutenue par deux voies parallèles : (1) L'activation du récepteur ErbB2 qui permet le recrutement de la cortactine. (2) L'activation de la PI3 Kinase, nécessitant la présence du LOS, qui active Rac1 et permet alors la phosphorylation de tyrosine sur la cortactine. Cela augmente la polymérisation de l'Actine.

$$F=32T\alpha^2$$

$$T=4\mu V/R$$

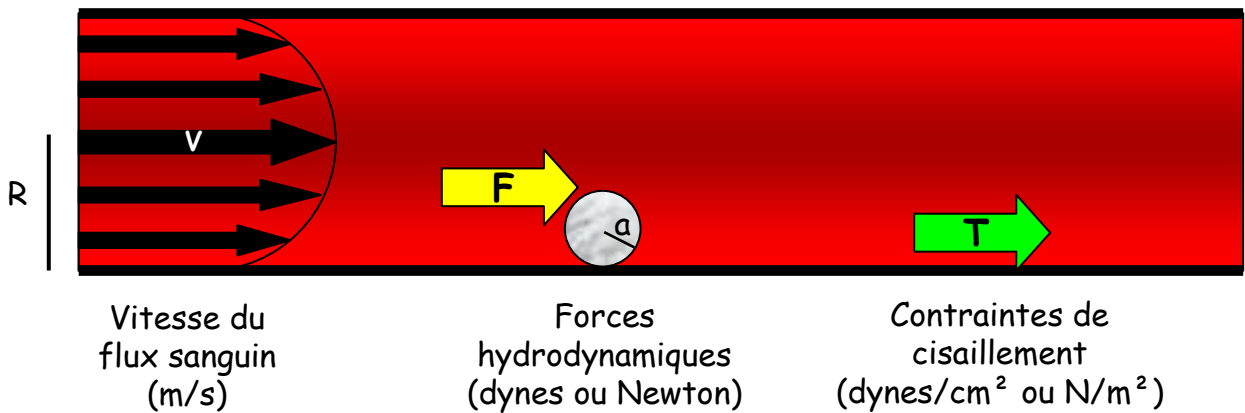


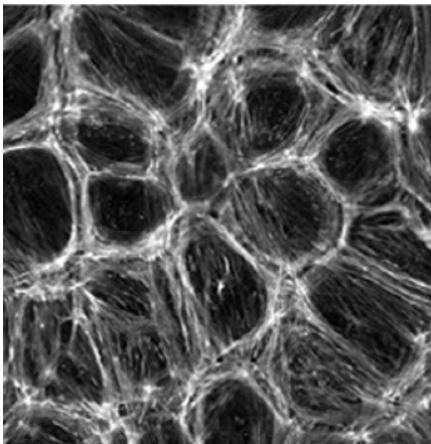
Figure 21 : Forces hydrodynamiques dans un vaisseau sanguin.

« R » est le rayon du vaisseau, « μ » la viscosité du sang et « V » sa vitesse, « a » est le rayon de l'objet sphérique parfait et « F » la force qui s'exerce sur l'objet en fonction des contraintes de cisaillement « T ».

Figure 22 : Distribution des contraintes de cisaillement dans le système sanguin.

Système sanguin	Contraintes de cisaillement (dynes/cm²)	Référence
Aorte abdominale	3 à 10,5	<i>Oshinski et al., 1995</i> <i>Oyre et al., 1997</i>
Artère coronaire	50	<i>Ohkubo et al., 2007</i>
Artère carotide	9,5 à 24	<i>Gnasso et al., 1997</i> <i>Oyre et al., 1998</i> <i>Irace et al., 2004</i>
Artère cérébrale	36	<i>Shojima et al., 2004</i>
Veine cave inférieure	2	<i>Cheng et al., 2003</i>
Artérioles	54	<i>Nagaoka et al., 2006</i>
Veinules	24	<i>Nagaoka et al., 2006</i>
Capillaires sanguins	0 à 30	<i>Mairey et al., 2007</i>

Cellules confluentes
cultivées sans flux



Cellules confluentes
cultivées avec flux

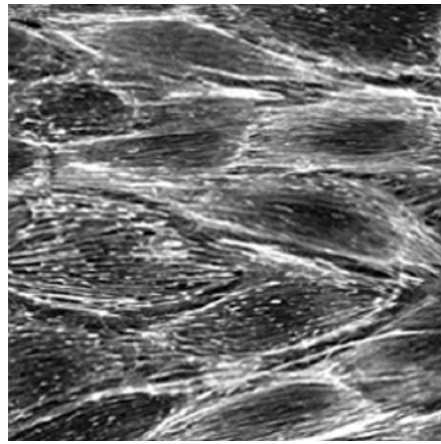


Figure 23 : Impact des forces hydrodynamiques sur la morphologie des cellules eucaryotes.
Cellules endothéliales soumises ou non à un flux de 15 dynes/cm² pendant 48h. Marquage de l'actine par la phalloïdine couplée à un fluorochrome, observation en microscopie à fluorescence (photos *Noria et al., 2004*).

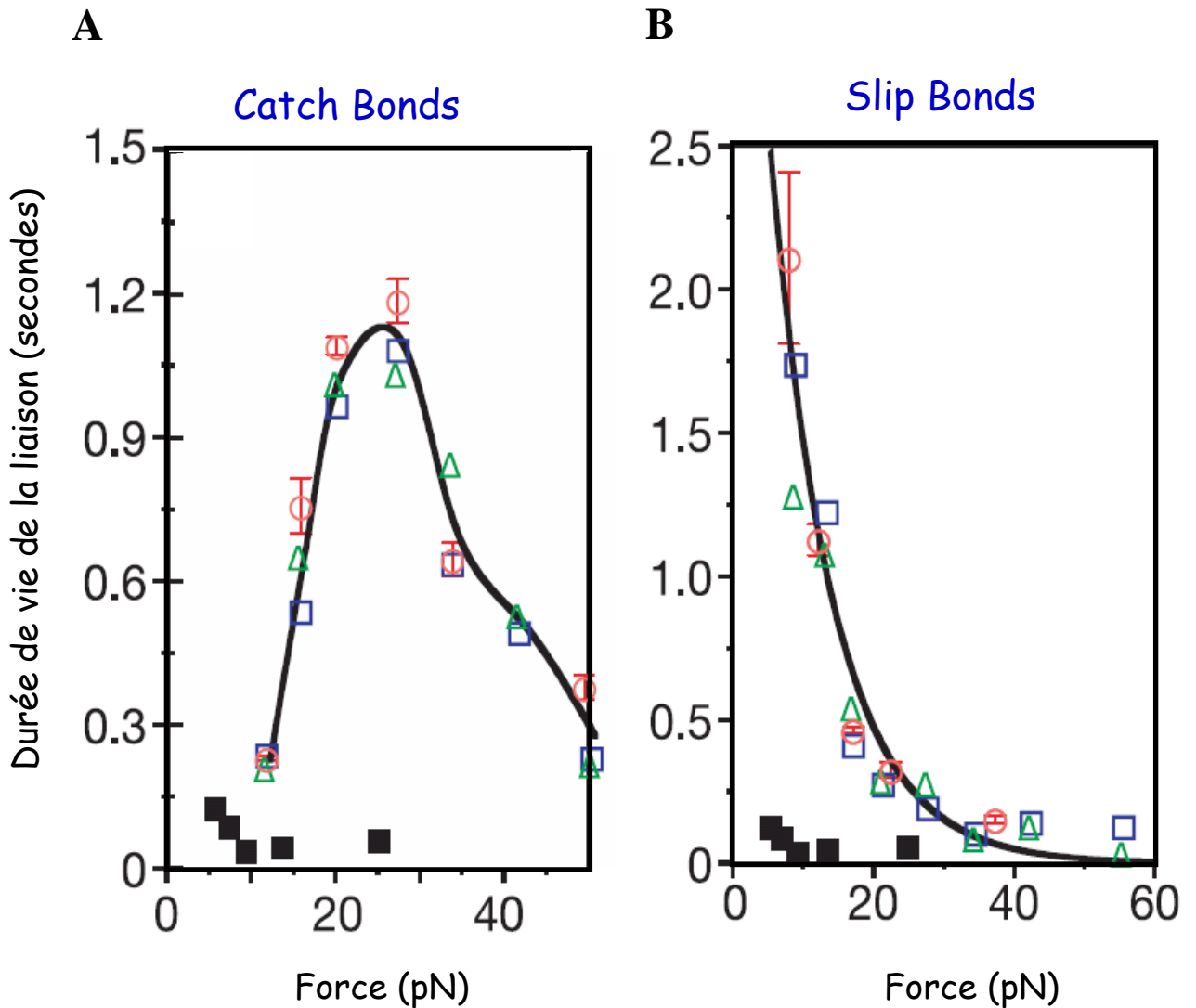
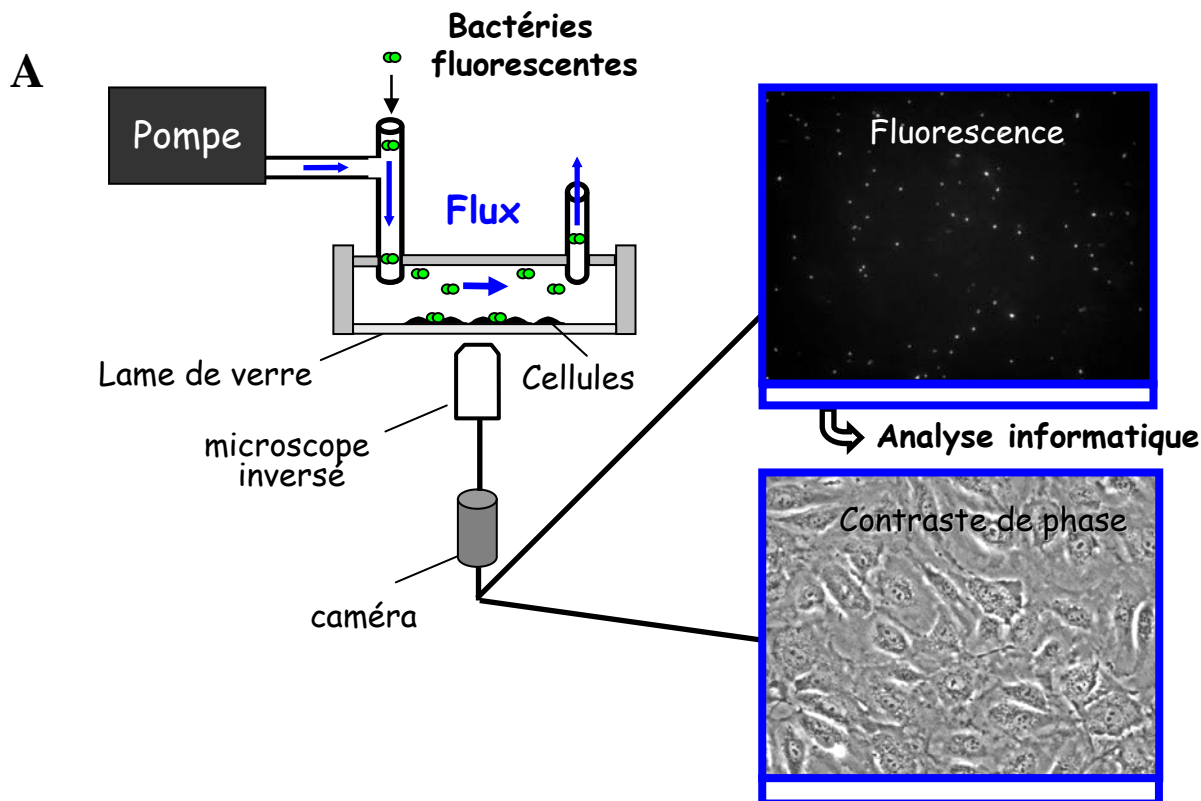
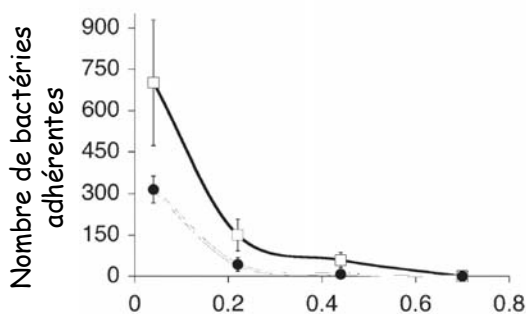


Figure 24 : Comportement des liaisons de type « Catch Bonds » et « Slip Bonds » .

Profils des liaisons entre la P-selectine des leucocytes et son ligand PSGL-1 (A) (*P-selectin glycoprotein ligand-1*) ou un anticorps dirigé contre la P-selectine (B). La P-selectine établit des liaisons de type « catch bond », renforcées transitoirement par l'application de forces, avec son ligand naturel. La liaison ligand-anticorps est sensible à l'application de forces (adapté de *Marshall et al., 2003*).



B



C

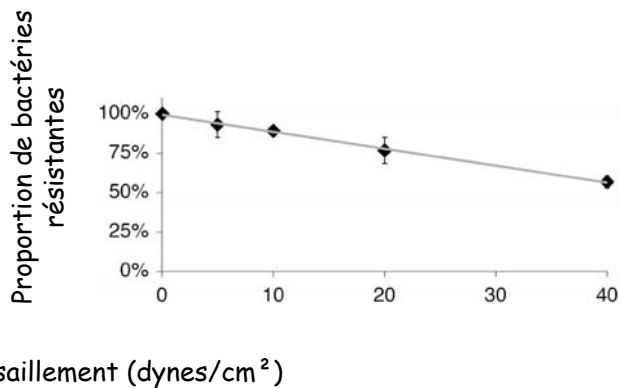


Figure 25 : Adhésion de *N. meningitidis* en condition de flux.

A. Schéma du système de chambre à flux laminaire mis au point par Emilie Mairey. Des cellules sont mises en culture dans une chambre à flux laminaire. Les bactéries fluorescentes sont injectées par une pompe dans la chambre. L'infection est suivie par vidéomicroscopie et les résultats analysés par informatique. **B.** Profil d'adhésion du méningocoque en fonction des contraintes de cisaillement sur cellules endothéliales Huvec (carrés) ou hCMEC/D3 (ronds). Inoculum 10^5 bactéries/mL. L'adhésion de la bactérie est fortement inhibée par le flux. **C.** Résistance au flux de bactéries individuelles après adhésion initiale. Proportion de bactéries adhérentes après application d'un flux. Le méningocoque ne se décroche que très peu malgré des flux importants (adapté de Mairey *et al.*, 2005).

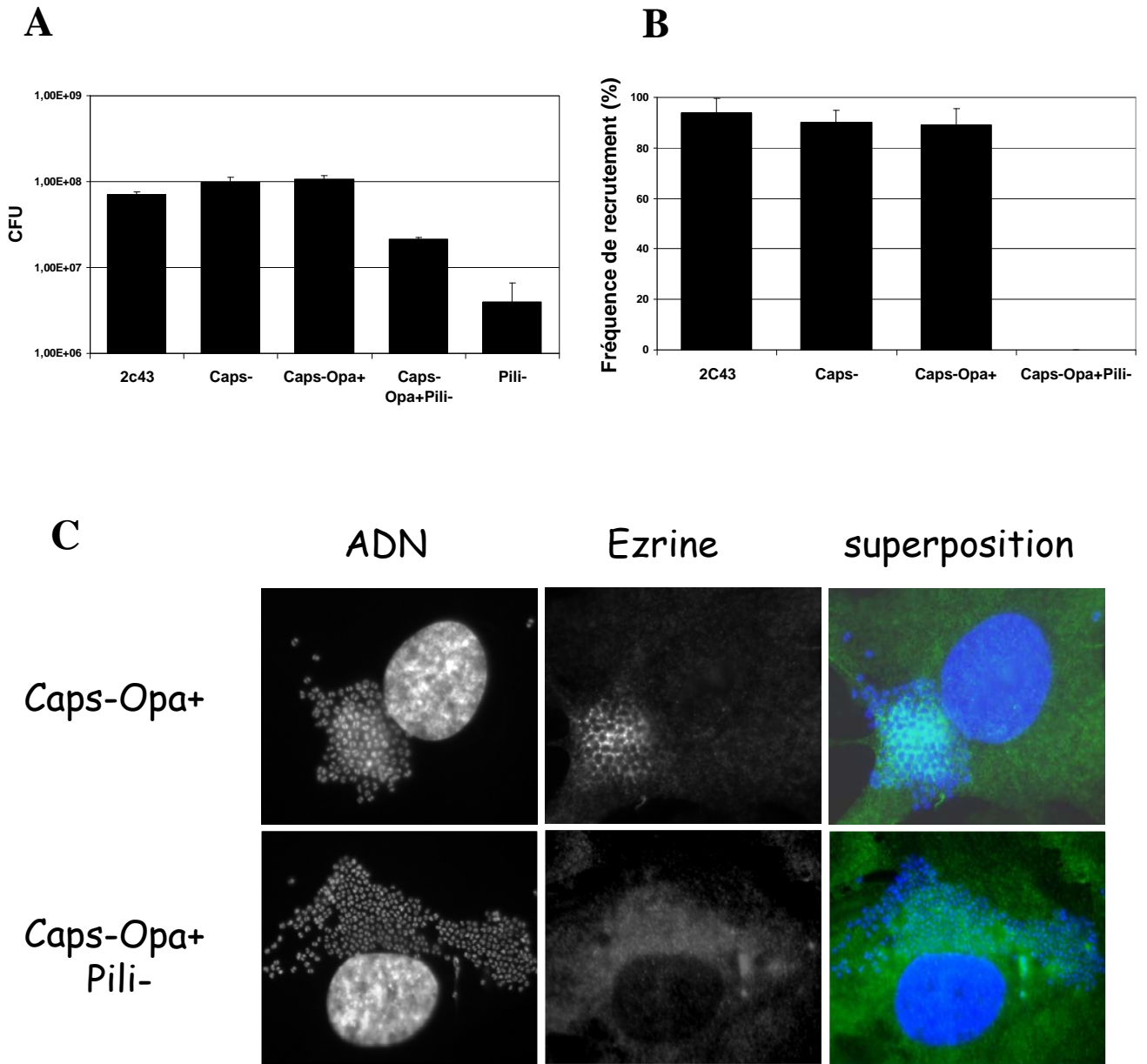
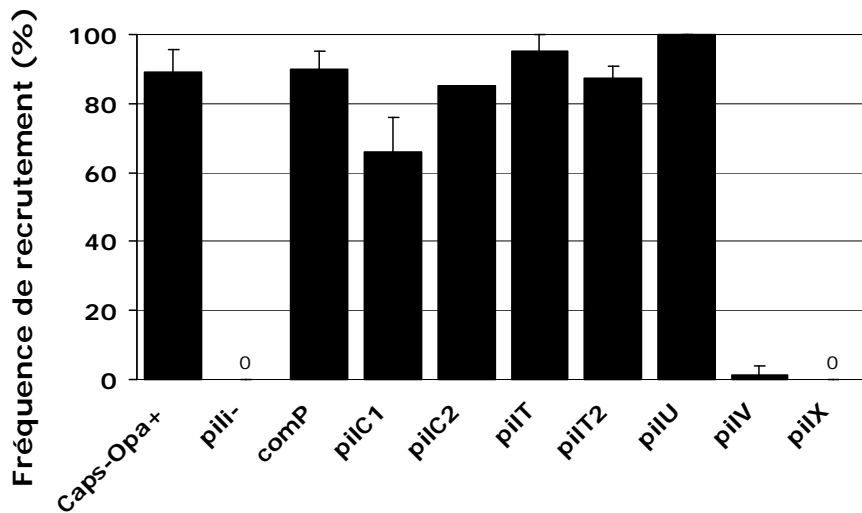


Figure 26 : Caractérisation de la souche de référence Caps-Opa+ et rôle des Pili de type IV dans le recrutement de la plaque corticale.

Caractérisation des souches avec ou sans capsule (Caps-) et exprimant la protéine OpaB (Opa+). L'absence de Pt4 est signifiée (Pili-). La souche 2C43 est une souche de méningocoque exprimant une capsule de séro-groupe C, des Pt4, Opa-, Opc-. Les différentes souches testées dérivent toutes de 2C43. **A.** Énumération du nombre de colonies adhérentes après infection de cellules endothéliales pendant 2 heures. **B.** Fréquence de recrutement de l'e-zrine en nid d'abeille, sous les microcolonies, après 2 heures d'infection. **C.** Analyse du recrutement de l'e-zrine en nids d'abeille caractéristiques par immunofluorescence. Marquage de l'ADN au DAPI. Marquage de l'e-zrine par immunodétection.

A**B**

Mutant	Adhésion	Agrégation	Rétraction	Compétence	Recrutement
<i>pilC1</i>	-	+	+	+	+
<i>piline SA</i>	+	-	+	+	+
<i>pilT</i>	+	+	-	-	+
<i>comP</i>	+	+	+	-	+
<i>pilV</i>	+	+	+	+	-

Figure 27 : Rôle individuel des protéines « Pil » dans les fonctions associées aux Pili de type IV.

A. Fréquence de recrutement de l'ézrine, pour les mutants des gènes *pil* dispensable à l'expression de Pt4, après 2 heures d'infection. Tous les mutants sont construits dans la souche Caps-Opta+. **B.** Tableau phénotypique des mutants impliqués dans une fonction spécifique associée aux Pt4, et de la souche exprimant la piline SA. Il existe une indépendance fonctionnelle et moléculaire entre les cinq fonctions associées aux Pt4.

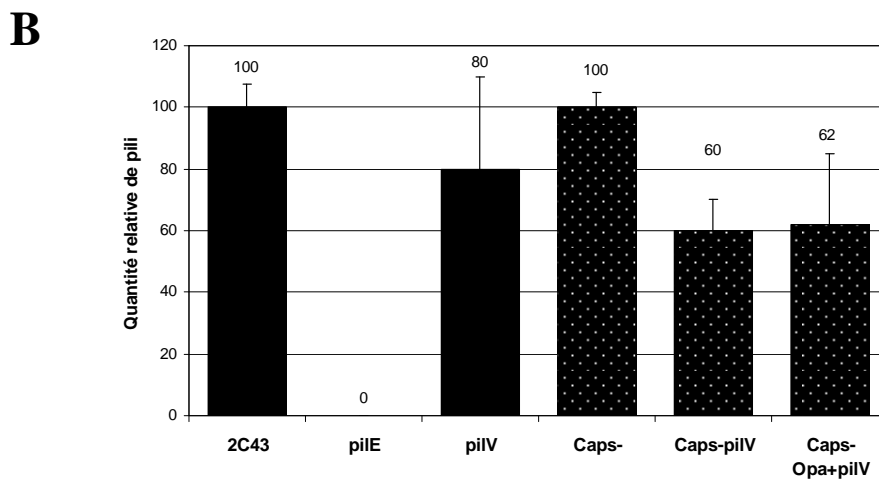
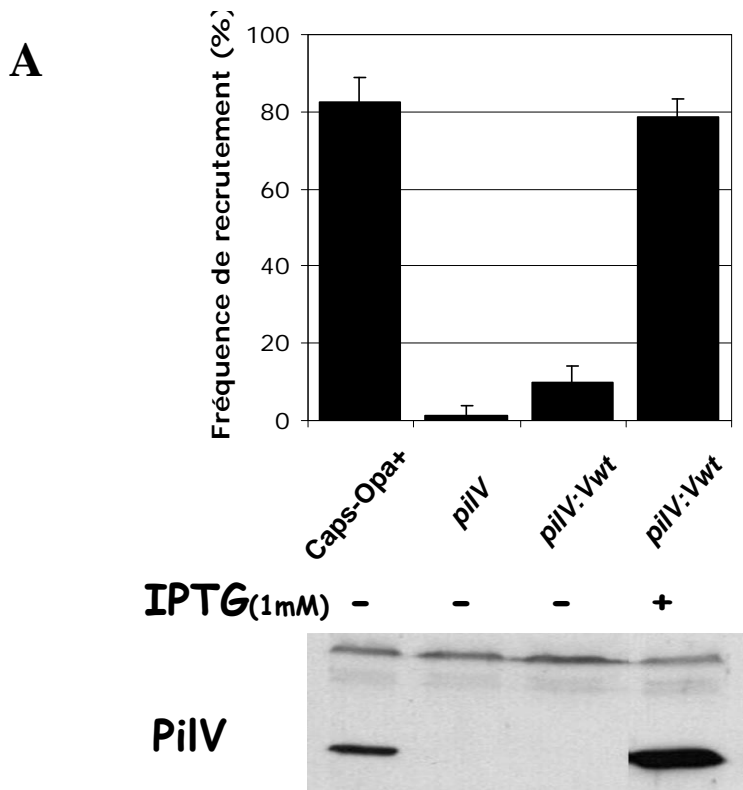


Figure 28 : Caractérisation du mutant de *pilV*.

A. Complémentation de la mutation dans le gène *pilV* par l'introduction d'un gène *pilV* contrôlée par un promoteur inducible à l'IPTG (*pilV:Vwt*). Caractérisation de la fréquence de recrutement de l'ézrine et contrôle de l'expression de la protéine PilV par western blot contre la protéine dans un lysat total équivalent des souches analysées. **B.** Quantification de la quantité relative de pili des mutants de *pilV* exprimants ou non une capsule et la protéine OpaB.

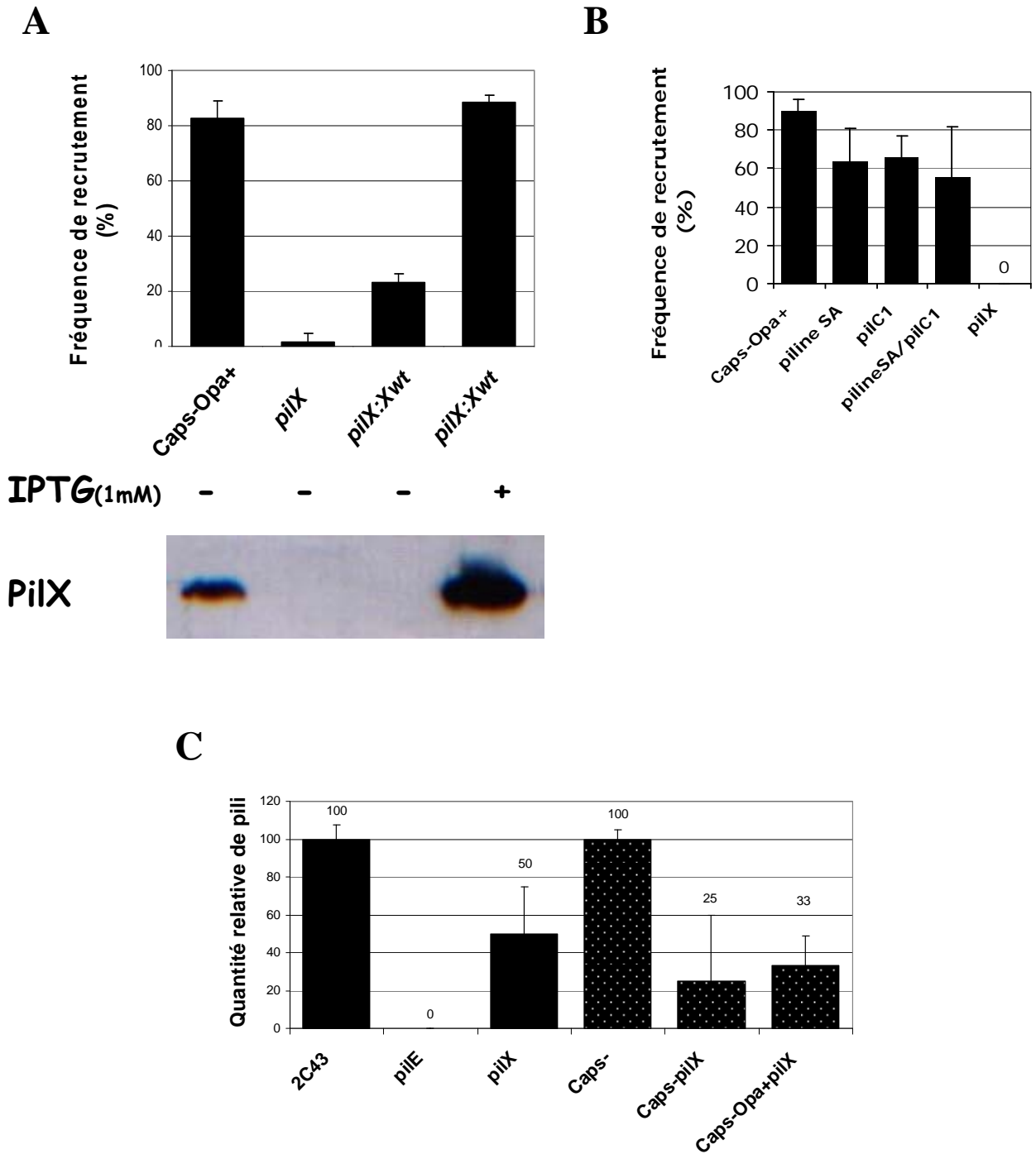


Figure 29 : Caractérisation du mutant de *pilX*.

A. Complémentation de la mutation dans le gène *pilX* par l'introduction d'un gène *pilX* contrôlée par un promoteur inducible à l'IPTG (*pilX:Xwt*). Caractérisation de la fréquence de recrutement de l'ezrine et contrôle de l'expression de la protéine PilX dans un lysat total équivalent des souches. **B.** Fréquence de recrutement de l'ezrine des mutants présentant des défauts d'adhésion (*pilC1*), d'agrégation (*piline SA*) ou les deux cumulés (*piline SA/pilC1* et *pilX*). **C.** Quantité relative de pili des mutants de *pilX* avec ou sans capsule et exprimant ou pas la protéine OpaB.

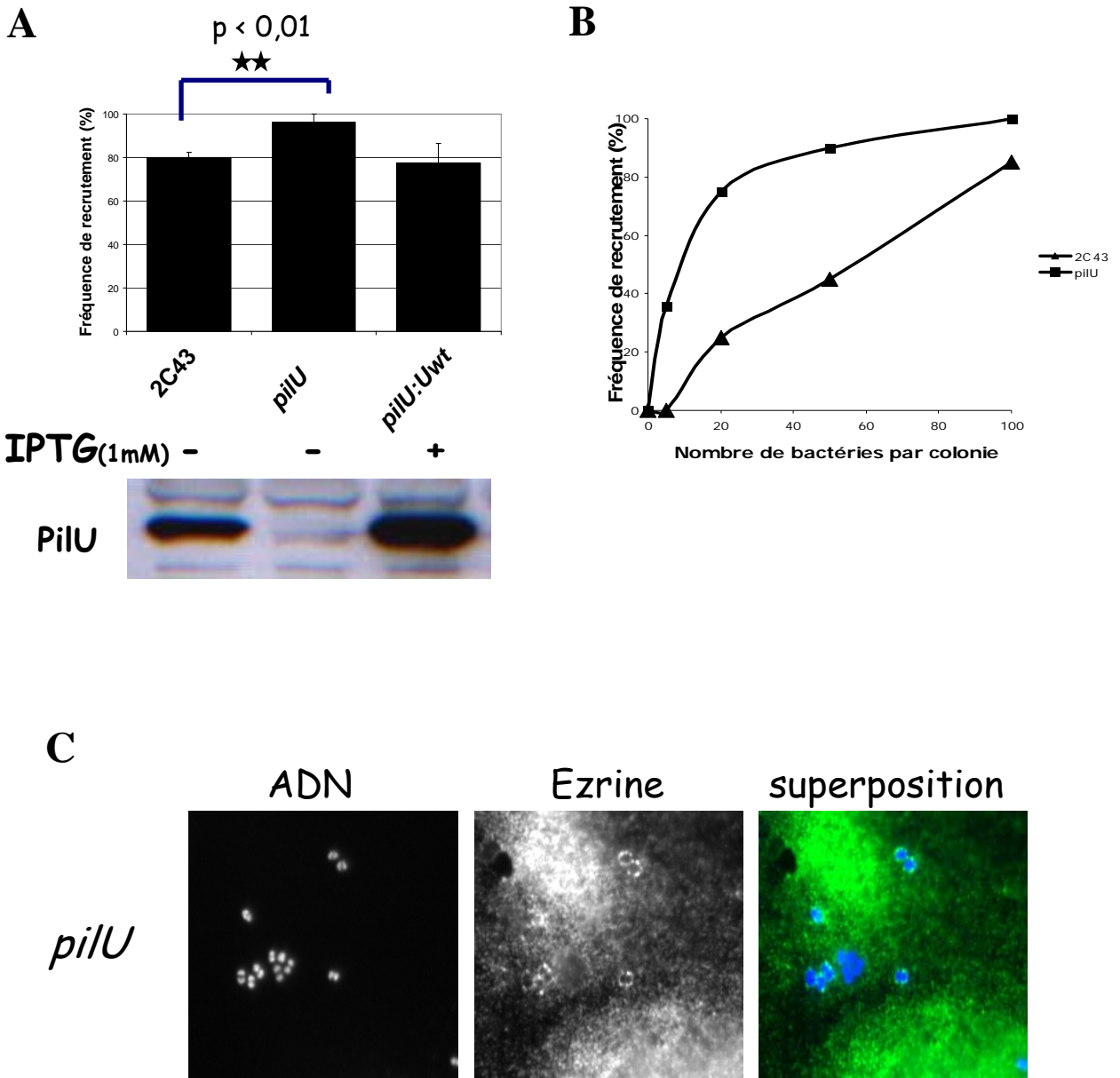


Figure 30 : Rôle de PilU dans le recrutement de la plaque corticale.

A. Complémentation de la mutation dans le gène *pilU* par introduction du gène sous promoteurs inductible à L'IPTG dans la souche 2C43. Fréquence de recrutement de l'eitrine de colonies de plus de 100 bactéries et contrôle de l'expression de PilU dans des lysats totaux équivalent des souches analysées. **B.** Fréquence de recrutement de l'eitrine en fonction de la taille des microcolonies de la souche 2C43 et du mutant de *pilU*. **C.** Immunofluorescence. Illustration du phénotype du mutant de *pilU* pour des petits groupes de bactéries.

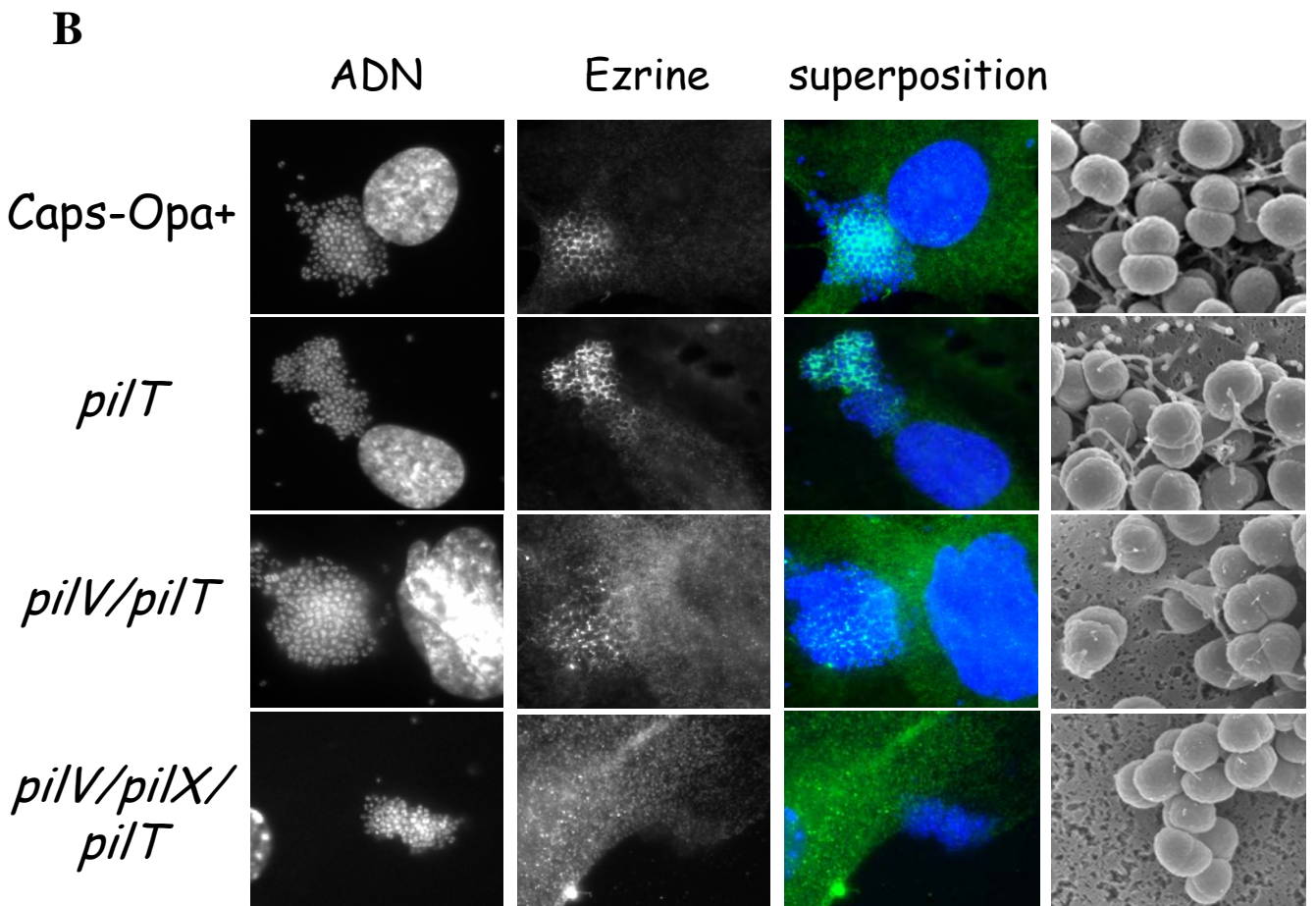
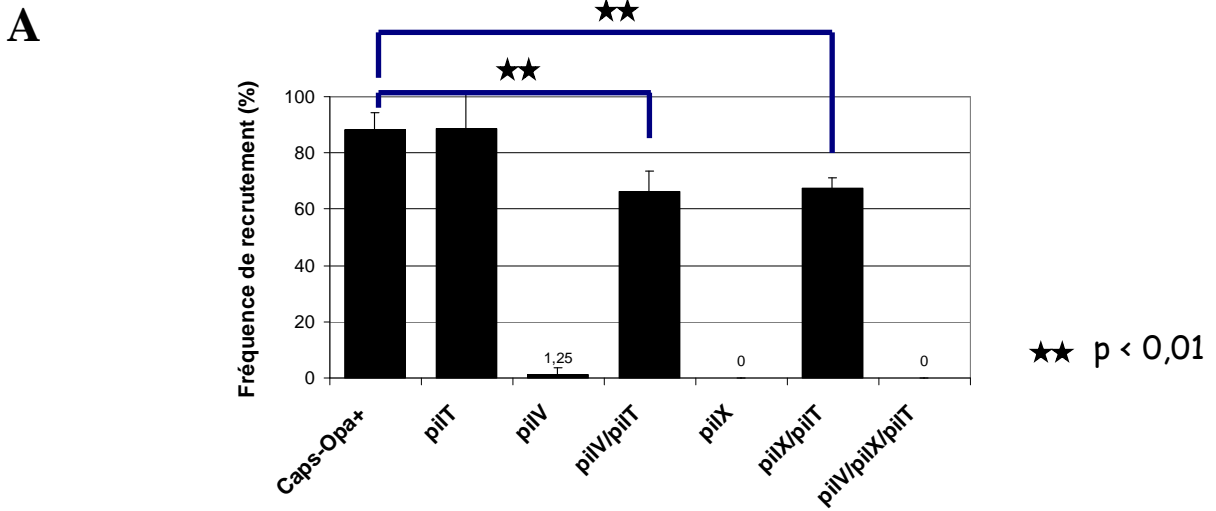


Figure 31 : Compensation des phénotypes des mutants de *pilV* et *pilX* par l'introduction d'une mutation au locus de *pilT*.

A. Fréquence de recrutement des mutants de *pilV* et *pilX* dans le contexte génétique Caps-Opa+ *pilT*. **B.** Immunofluorescence et microscopie électronique. Illustration du recrutement de l'eitrine des souches dans le contexte génétique Cap-Opa+ *pilT*.

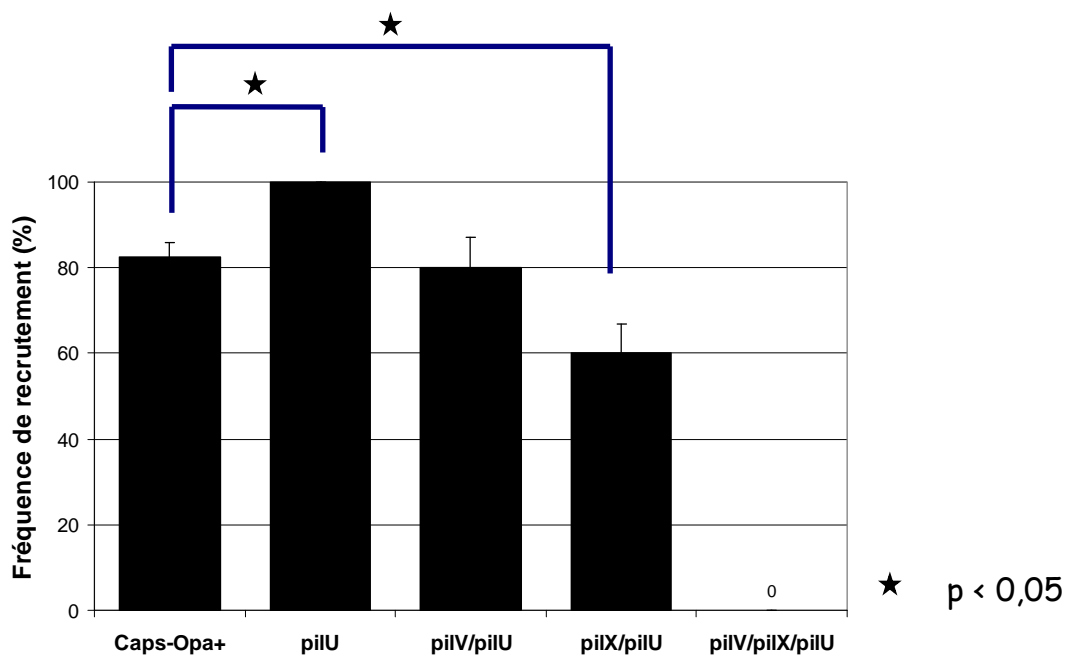


Figure 32 : Effet de la mutation au locus de *pilU* dans le recrutement de la plaque corticale. Fréquence de recrutement des mutants de *pilV* et *pilX* dans le contexte génétique Caps-Opa+ *pilU*.

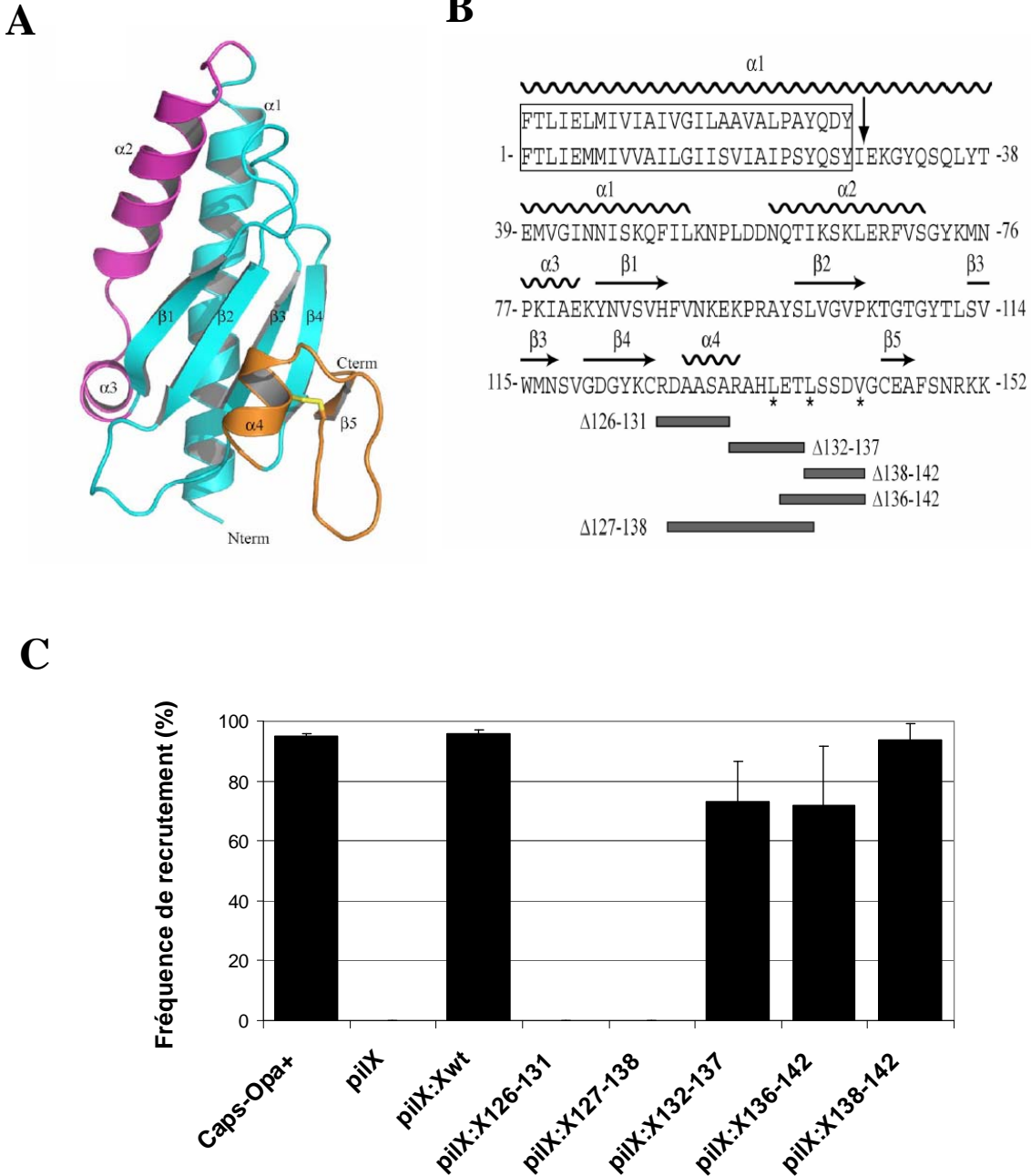


Figure 33 : Rôle de la région disulfure de PilX dans le recrutement de la plaque corticale. **A.** Structure de la protéine PilX (adaptées de *Helaine et al., 2007*). La région disulfure est représentée en orange. **B.** Séquence et structures secondaires de la protéine PilX (adaptée de *Helaine et al., 2007*). Les structures secondaires sont représentées au dessus de la séquence. Les séquences délétées sont représentées sous la région disulfure. **C.** Fréquence de recrutement des souches exprimant les délétions dans PilX. La région minimale 126-131 correspond à l'hélice $\alpha 4$.

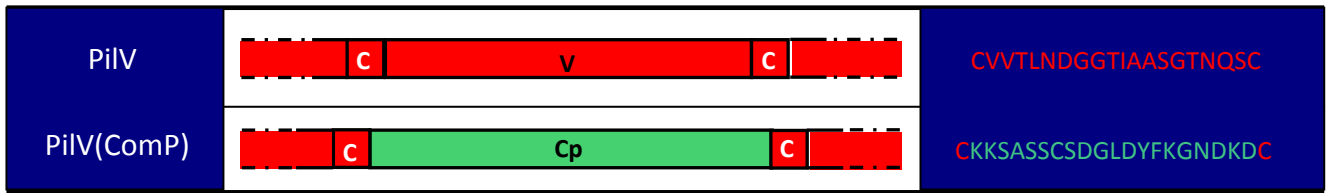
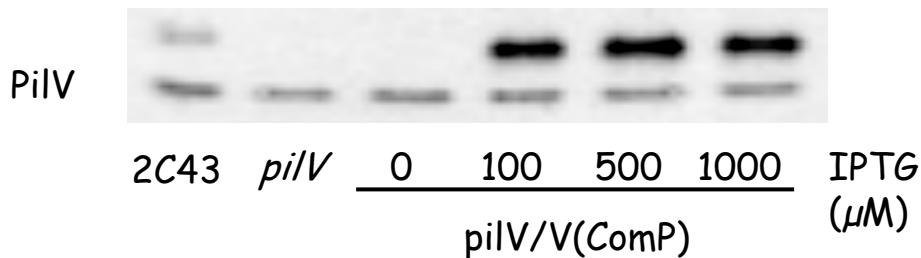
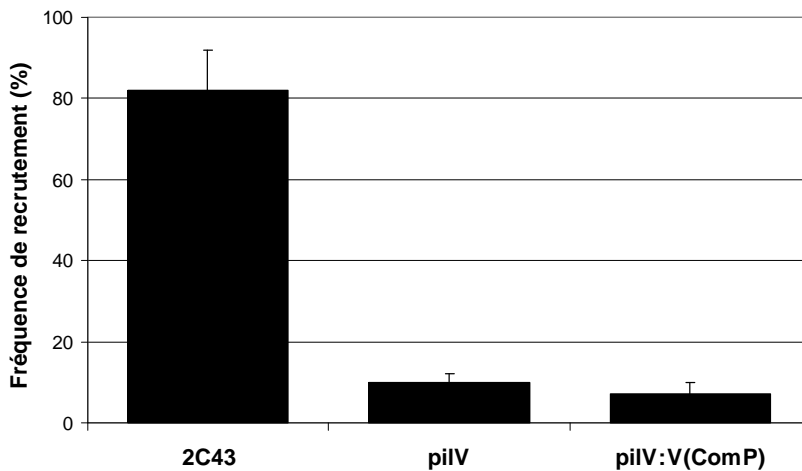
A**B****C**

Figure 34 : Rôle de la région disulfure de PiIV dans le recrutement de la plaque corticale. **A.** Schéma de la région disulfure de la protéine chimère PiIV(ComP). La région disulfure de ComP (notée Cp) est substituée à celle de PiIV (notée V). Le gène codant cette protéine est inséré dans une région intergénique du chromosome du mutant de *pilV*, sous promoteur inducible à l'IPTG. **B.** Contrôle de l'expression des protéines PiIV et PiIV(ComP) après 2 heures d'induction avec des concentrations croissantes d'IPTG par western blot contre la protéine PiIV dans un lysat total équivalent des souches. **C.** Fréquence de recrutement de la souche exprimant la protéine chimère PiIV(ComP) après induction à l'IPTG (1mM).

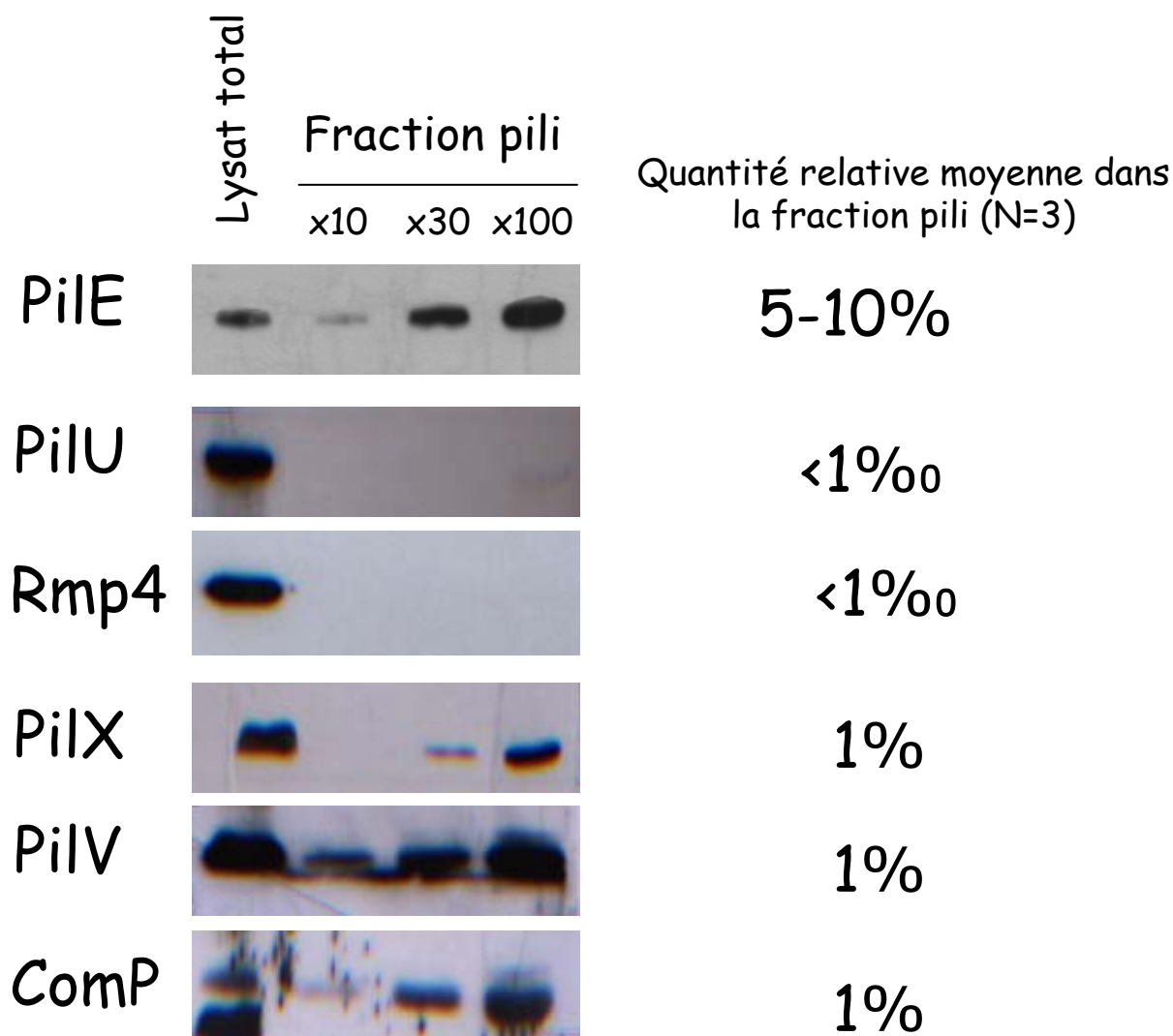


Figure 35 : Co-purification de PilV et PilX avec les pili.

Purification de pili par méthode mécanique et chimique. Le dépôt de gauche correspond à un lysat total de la souche 2C43. La fraction de pili purifiée est déposée à différentes concentrations par rapport au lysat total (concentrée 10, 30 ou 100 fois). La quantité relative de protéines purifiées est estimée par analyse informatique de l'intensité du marquage. La moyenne est faite sur 3 préparations indépendantes. Les protéines Rmp4 et PilU permettent de contrôler la contamination de la fraction de Pt4 par la membrane externe et le cytoplasme bactérien respectivement.

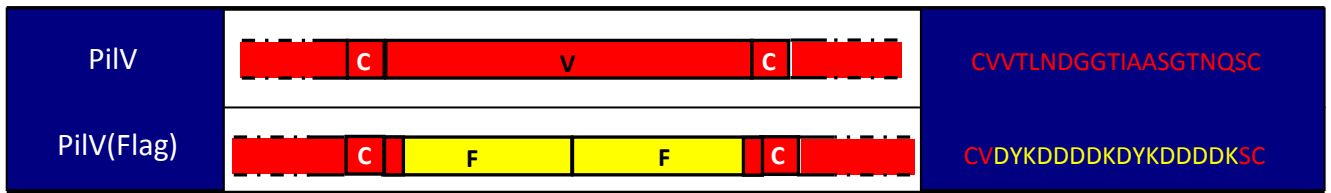
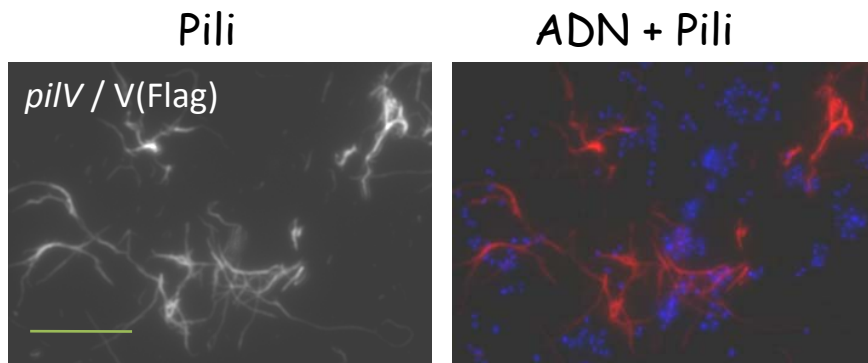
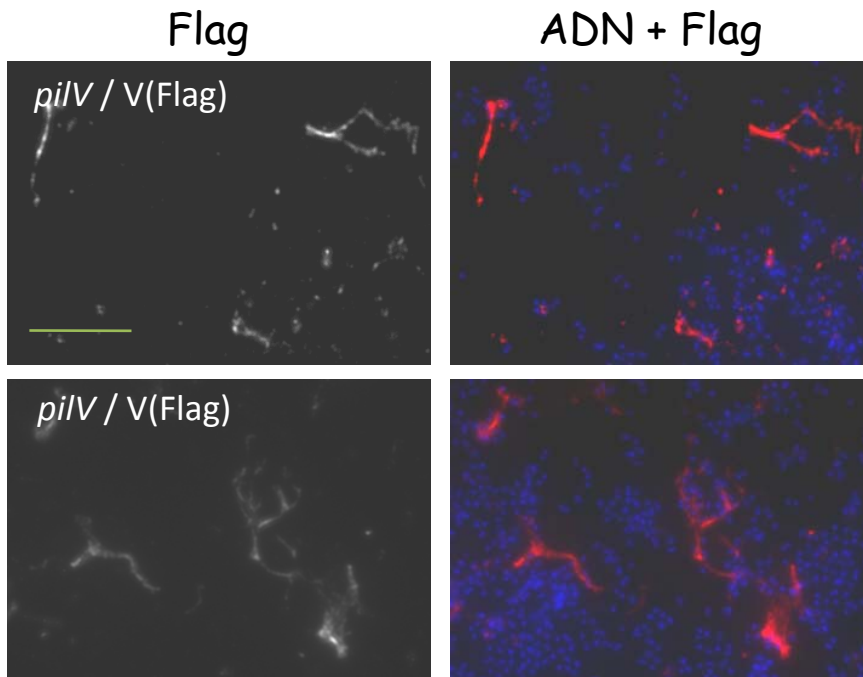
A**B****C**

Figure 36 : PilV est assemblé dans des fibres extracellulaires.

A. Schéma de la protéine chimère PilV(Flag). Deux séquences Flag (F) sont substituées à la région disulfure de PilV (V). Le gène codant cette protéine est inséré dans une région intergénique du chromosome du mutant de *pilV*, sous promoteur inductible à l'IPTG. **B. et C.** Immunofluorescence. Détection des Pt4 (**B.**) et de la protéine chimère PilV(Flag) (**C.**) dans la souche *pilV*:V(Flag) après induction de l'expression du gène avec de l'IPTG à 1mM. A gauche, marquage des pili ou de la protéine chimère. A droite, marquage des pili ou de la protéine chimère (rouge) et de l'ADN bactérien avec du DAPI (bleu).

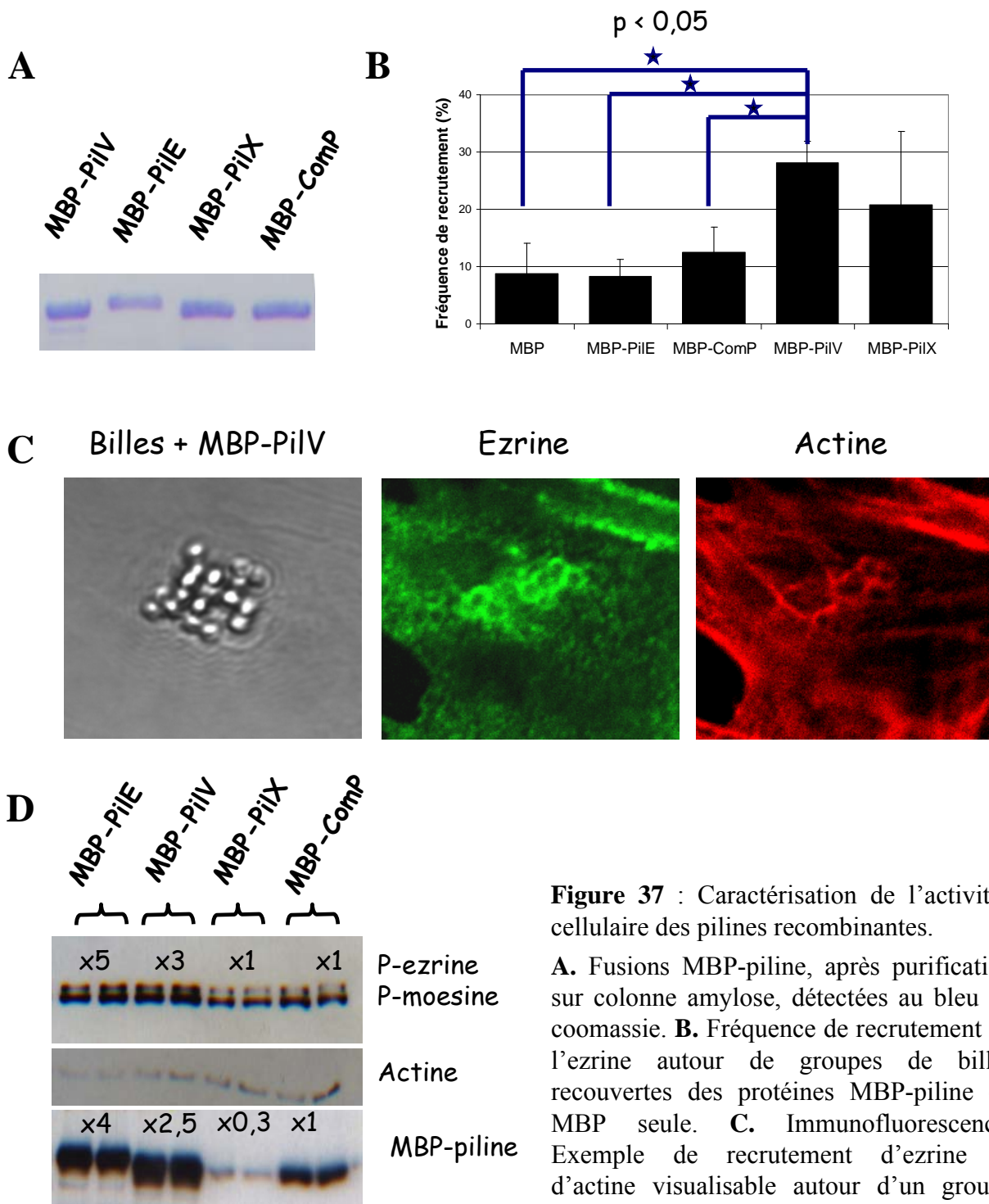


Figure 37 : Caractérisation de l'activité cellulaire des pilines recombinantes.

A. Fusions MBP-piline, après purification sur colonne amylose, détectées au bleu de coomassie. **B.** Fréquence de recrutement de l'e-zrine autour de groupes de billes recouvertes des protéines MBP-piline ou MBP seule. **C.** Immunofluorescence. Exemple de recrutement d'e-zrine et d'actine visualisable autour d'un groupe d'une dizaine de billes recouvertes de MBP-PiIV.

D. Activité cellulaire directe des protéines MBP-piline. Cellules traitées avec $2\mu\text{M}$ de protéines MBP-piline. Détection par western blot : anticorps dirigés contre les tyrosines phosphorylée des ERM, l'actine et la MBP. La quantification de l'augmentation de la phosphorylation de l'e-zrine, ou de la quantité de MBP-piline est estimée par analyse informatique de l'intensité du marquage et normalisée par rapport au niveau d'actine.

Niveau d'énergie

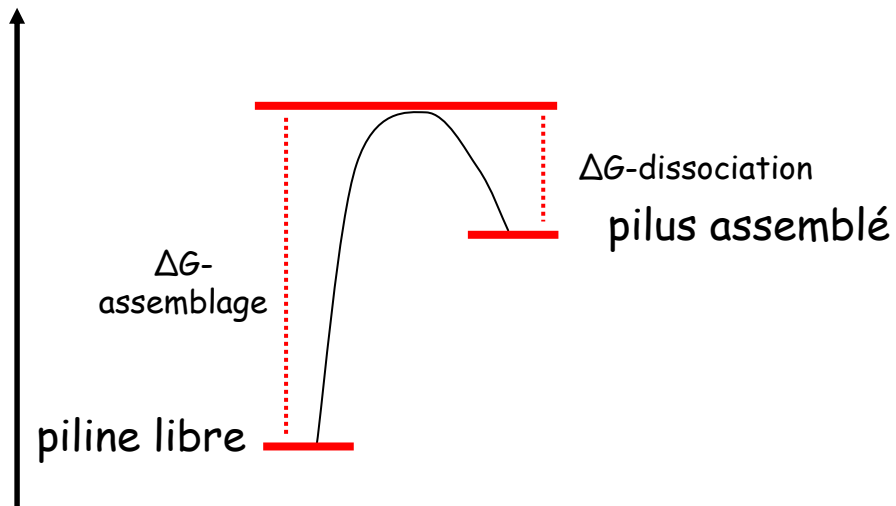


Figure 38 : Modèle théorique des niveaux d'énergie impliqués dans l'assemblage/dissociation des pili.

Dans ce modèle théorique, l'assemblage des pili est coûteux en énergie. L'hydrolyse d'une molécule d'ATP permet l'assemblage d'une sous-unité de pilone dans la fibre. En revanche, la dissociation des fibres ne nécessite qu'un apport très réduit en énergie. L'hydrolyse d'une molécule d'ATP permet la rétraction de plusieurs unités de pilone.

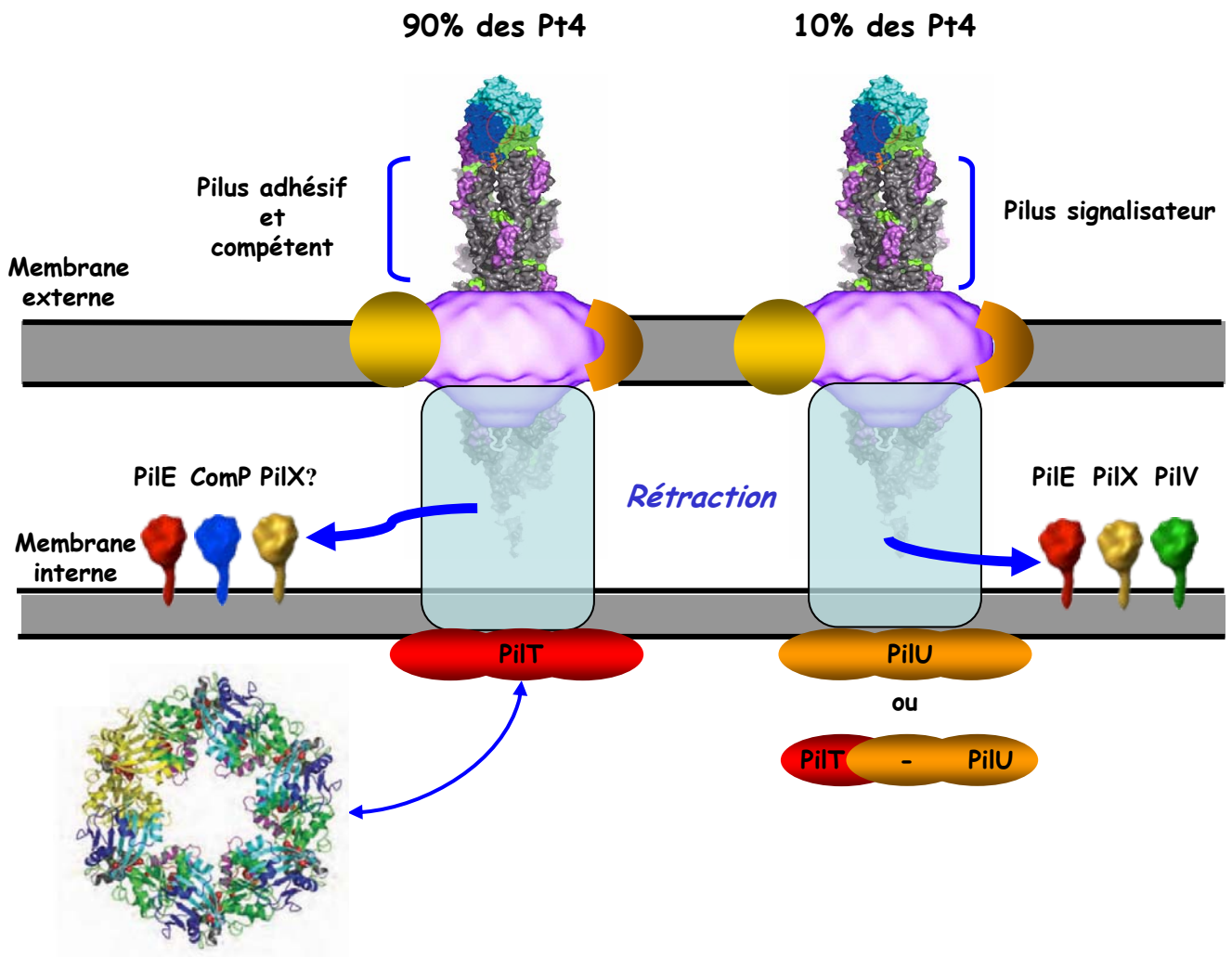


Figure 39 : Modèle d'action de PilU.

PilU et PilT assurent la rétraction de deux types de Pt4 structurellement et fonctionnellement distincts. Les fonctions associées aux Pt4 sont partagées par ces deux types de pili et assurées par les pilines mineures spécifiques de chaque pilus. Structure du pilus: (Craig *et al.*, 2006); Complexe à l'apex du Pilus: (Korotkov & Hol, 2008); PilQ: (Collins *et al.*, 2003) et PilT: (Satyshur *et al.*, 2007).