



www.mufopam.cnrs.fr



GDR 3625 MuFoPAM/Réseau MUFOPAM « MultiFonction des Peptides AntiMicrobiens »

9^{èmes} Journées Annuelles



**19-21 Octobre 2022
AMBOISE**

VVF les châteaux de la Loire
1 rue Rouget de l'Isle, Les violettes
37400 Amboise

COMITE SCIENTIFIQUE

Mohamed AMICHE (Paris)
Christine BRAQUART-VARNIER (Poitiers)
Philippe BULET (Grenoble-Archamps)
Alexandra DASSONVILLE-KLIMPT (Amiens)
Yannick FLEURY (Lorient-Quimper)
Vincent HUMBLOT (Besançon)
Katy JEANNOT (Besançon)
Anne-Christine LALMANACH (Tours-Nouzilly)
Céline LANDON (Orléans)
Olivier LESOUHAITIER (Evreux)
Marc MARESCA (Marseille)
Josette PERRIER (Marseille)
Aurélie TASIEMSKI (Lille)
Lhousseine TOUQUI (Paris)
Julien VERDON (Poitiers)
Dror WARSCAWSKI (Paris)
Séverine ZIRAH (Paris)

COMITE D'ORGANISATION

Philippe BULET (Grenoble-Archamps)
Yannick FLEURY (Lorient-Quimper)
Christine GABANT (Orléans)
Virginie HERVE (Tours)
Vincent HUMBLOT (Besançon)
Céline LANDON (Orléans)
Séverine ZIRAH (Paris)

SPONSORS



9^{èmes} Journées GDR MuFoPAM

Amboise, 19-21 octobre 2022

PROGRAMME

MERCREDI 19 OCTOBRE 2022

14h00 Accueil des participants, installation des posters

14h40 Ouverture des journées, mot d'accueil - Céline Landon & Virginie Hervé

Méthodes OMICs pour l'étude des PAMs

Modérateurs : Alexandra Dassonville-Klimpt(Amiens) & Yannick Fleury (Lorient)

14h50 Conférencier invité : Nicola D'Amelio (Amiens): *ADAPTABLE: A web platform of antimicrobial peptides tailored to the user's research.*

15h20 Delphine Passerini (Nantes) : *Diversité des PAMs dans le microbiote des produits de la mer.*

15h40 Séverine Zirah (Paris) : *Stabilité et impact sur le microbiote colique de la microcine J25.*

16h Pause-café - Posters

Antibiorésistance

Modérateurs : Aurélie Tasiemski (Lille) & Olivier Lesouhaitier (Evreux)

16h40 Virginie Hervé (Tours) : *Application innovante de la Poly-L-Lysine pour contrer l'antibiorésistance de Pseudomonas aeruginosa.*

17h00 Albane Jouault (Paris) : *Les peptides antimicrobiens représentent-ils de bons candidats pour traiter les infections bactériennes chez les patients atteints de mucoviscidose ?*

17h20 Jean-Baptiste Mascary (Rennes) : *Pharmacokinetic study of a new pseudopeptide antibiotic and its effects on a murin model of osteoarticular Staphylococcus aureus infection.*

17h40 Céline Landon (Orléans) : *Les 9 ans du GDR MuFoPAM 2014-2022*

17h50 1^{ère} AG « Réseau MuFoPAM », Philippe Bulet (Archamps)

Photo de groupe

Diner

JEUDI 20 OCTOBRE 2022

Approches innovantes pour l'étude des PAMs

Modérateurs : Virginie Hervé (Tours) & Vincent Humblot (Besançon)

8h30 Conférencier invité : Sofiane El Kirat Chatel (Nancy) : *Antimicrobial agents, where do they bind, how do they act: analysis at the nanoscale.*

9h10 Céline Boidin-Wichlacz (Lille) : *Setting up an in vivo study of an antimicrobial peptide on murine models of lung infections.*

9h30 Eloïse Lebaudy (Strasbourg) : *The antibacterial properties of multiple antigenic peptides (MAP) based on polyarginine: in vitro MIC evaluation and molecular dynamic simulations.*

9h50 Céline Landon (Orléans) : *Real-Time Fluorescence Microscopy on Living E. coli to monitor membrane permeabilizations. Example with the King Penguin's β -Defensin AvBD103b.*

10h10 Pause-café – Posters

Mécanismes des PAMs

Modérateurs : Séverine Zirah (Paris) & Julien Verdon (Poitiers)

11h00 Laila Zaatouf (Paris) : *Mécanisme d'action d'un PAM déterminé par RMN solide in vivo.*

11h20 Adrien Gebus (Strasbourg) : *Mechanical and structural investigations of two antimicrobial peptides synergism for modern therapeutic approaches.*

11h40 Ons Kharrat (Orléans) : *Mechanism of action of defensin ETD151 on Botrytis cinerea: insights on the interaction with Glucosylceramides.*

12h00 Florie Desriac (Caen) : *AntibioDEAL : un réseau national dédié à la découverte de nouveaux antimicrobiens.*

12h30 Repas

Après midi-libre – propositions en cours d'élaboration

19h30 Apéritif

Repas de Gala et soirée musicale

VENDREDI 21 OCTOBRE 2022

Multifonctions des PAMs – Part 1

Modérateurs : Josette Perrier (Marseille) & Mohamed Amiche (Paris)

9h20 Charlotte Roupie (La Rochelle) : *Développement de nouvelles approches applicatives pour la microcine L : de sa production à ses propriétés biologiques.*

9h40 Clarisse Roblin (Marseille) : *La Ruminococcine C1 : un sactipeptide multifonctionnel pour la santé humaine.*

10h00 Hugo Terrasson (Villeurbanne) : *Les peptides « Bacteriocyte-specific Cystein-Rich » : une nouvelle famille de défensine : régulateurs de la symbiose chez les pucerons ?*

10h20 Pause-café

Multifonctions des PAMs – Part 2

Modérateurs : Christine Braquart-Varnier (Poitiers) & Lhousseine Touqui (Paris)

11h00 Catherine Mura (Orléans) : *Le double jeu de l'hepcidine.*

11h20 Alain Dufour (Lorient) : *Trick or treat? La sorcellerie anti-biofilm des bactéries marines.*

Conférence de clôture

Modérateur : Philippe Bulet (Archamps)

11h40 Conférencier invité : Philippe Karoyan (X-Pharma, Paris) : *Peptides: A manifesto.*

12h10 Remise des prix et clôture des journées

Repas

RESUMÉS

***COMMUNICATIONS
ORALES***

Méthodes OMICs pour l'étude des PAMs

ADAPTABLE: A web platform of antimicrobial peptides tailored to the user's research

Francisco Ramos Martín¹, Thibault Annaval¹, Sebastien Buchoux¹, Catherine Sarazin¹, **Nicola D'Amelio**^{1*}

¹Unité de Génie Enzymatique et Cellulaire UMR 7025 CNRS, Université de Picardie Jules Verne, Amiens, 80039, France

Due to their extraordinary variety of activities (antibacterial, antiviral, antifungal, antiparasitic, anticancer, anti-inflammatory, immunomodulatory), antimicrobial peptides (AMPs) have received significant attention, especially as candidate drugs to face the threat of super-bacteria. With thousands of sequences in multiple web-resources, a systematic study of the relation between the sequence and the mechanism of action is urgently needed. With ADAPTABLE (<http://gec.u-picardie.fr/adaptable>), we want to provide the researcher with a tool to select AMPs with customizable properties, including target organism and standardized experimental activity concentration. Clustering in sequence-related families highlights common traits in peptides with potentially similar activity, independently of their evolutionary or synthetic origin. The web platform relies on the ADAPTABLE database counting over 40000 non-redundant sequences with related information. In the era of antimicrobial resistance, ADAPTABLE was created to provide a unifying platform where sequence-alignment and "property-alignment" can be used in synergy to highlight sequence-activity relations in the complex field of AMPs.

Mots-Clés : antimicrobial peptides, web-server, sequence alignment, database

Références :

Ramos-Martín, F., Annaval, T., Buchoux, S., Sarazin, C., & D'Amelio, N. (2019). ADAPTABLE: a comprehensive web platform of antimicrobial peptides tailored to the user's research. *Life science alliance*, 2(6). DOI: 10.26508/lsa.201900512.

***Correspondance** : nicola.damelio@u-picardie.fr

Diversité des PAMs dans le microbiote des produits de la mer

Delphine Passerini^{1*}, Laetitia Kolypczuk¹, Alexandre Cormier², Thomas Sauvage¹, Françoise Leroi¹

¹EM3B-MASAE, Ifremer, 44311-Nantes, France

²SeBimer-IRSI, Ifremer, 29280 -Brest, France

Les produits de la mer sont des matrices alimentaires marines présentant des microbiotes bactériens très variés. La diversité et les interactions bactériennes qui s'y produisent impactent la dégradation organoleptique et le développement de bactéries pathogènes dans les aliments. Elles influencent également l'efficacité de méthodes de bio-conservation telle que la biopréservation, qui repose sur l'utilisation de bactéries bioprotectrices avec des activités antimicrobiennes pour empêcher le développement de bactéries indésirables. Dans le cadre de l'ANR JCJC SEABIOMIC, nous avons entrepris d'étudier la régulation des compétitions bactériennes, sur des modèles sélectionnés, à l'aide des approches -omiques, en vue d'optimiser l'utilisation de la biopréservation. Dans une première partie de cette étude, le séquençage, l'assemblage, l'annotation et l'analyse de 100 génomes de bactéries isolées de microbiote de saumon, ont permis d'étudier la diversité des peptides anti-microbiens (PAMs). En parallèle, une approche fonctionnelle, par l'étude *in vitro* des inhibitions croisées entre les souches, a permis de mettre en évidence des profils d'interactions entre différents genres bactériens. Les facteurs biotiques et abiotiques influençant ces interactions et l'induction des PAMs, seront ensuite identifiés par culturomique et transcriptomique.

Mots-Clés : génomique, bactéries marines, compétitions

* **Correspondance** : delphine.passerini@ifremer.fr

Stabilité et impact sur le microbiote colique de la microcine J25

Séverine Zirah^{1*}, Sabine Naimi², Sylvie Rebuffat¹, Ismail Fliss²

¹*Molécules de Communication et Adaptation des Microorganismes, UMR 7245 CNRS-MNHN, 75005 Paris, France*

²*Département Sciences des aliments, Université Laval, Québec, Canada*

Les microcines sont des bactériocines produites par les entérobactéries montrant une diversité de structures et de mécanismes d'action remarquable et un spectre antibactérien étroit¹. La microcine J25 (MccJ25) est un peptide lasso produit par *Escherichia coli*, inhibiteur de l'ARN polymérase. Nous avons examiné sa stabilité et son impact sur le microbiote colique *in vitro*, en utilisant le simulateur de tractus intestinal TIM-1² et le système de fermentation colique PolyfermS³. Les prélèvements collectés au cours du temps ont été extraits et analysés par chromatographie liquide – spectrométrie de masse et métabarcoding 16S. MccJ25 a montré une bonne stabilité en conditions intestinales mais une dégradation rapide dans le compartiment mimant le duodénum. L'identification des formes de dégradation a révélé une zone de fragilité dans la boucle, soumise à de multiples hydrolyses. La comparaison de l'effet sur le microbiote colique de MccJ25 avec celui de la rifampicine, antibiotique qui partage la même cible intracellulaire, a montré un impact important de la rifampicine sur le microbiome et le métabolome, avec l'accumulation d'acides aminés liée à l'inhibition de la synthèse des protéines pour un large spectre de bactéries, tandis que le métabolome en présence de MccJ25 revient rapidement proche de son état initial.

Mots-Clés : Bactériocines, microcines, métabolomique, barcoding 16S, microbiote

Références :

Tehlig S., Ben Said L., Zirah S., Fliss I., Rebuffat S. *Front. Microbiol.* 11:586433, 2020.

Minekus M., Marteau P. Havenaar, R. Altern. *Lab. Anim.* 23:197-209, 1995.

Tanner S.A., Berner A.Z., Rigozzi E., Grattepanche F., Chassard C., Lacroix C., *PloS One* 9:e94123, 2014.

*Correspondance : severine.zirah@mnhn.fr

Antibiorésistance

Antibiorésistance

Application innovante de la Poly-L-Lysine pour contrer l'antibiorésistance de *Pseudomonas aeruginosa*

Delphine Fouquenot¹, Virginie Vasseur¹, Katy Jeannot^{2,3,4}, Fabien Launay¹, Mustapha Si-Tahar¹, **Virginie Hervé**^{1*}

¹Centre d'Etude des Pathologies Respiratoires, Université de Tours / Inserm U1100, Tours, France, 37032

²UMR 6249 Chrono-Environnement, UFR Sciences Médicales et Pharmaceutiques, Université de Bourgogne-Franche Comté, Besançon, France

³French National Reference Centre for Antibiotic Resistance, Besançon, France

⁴Département de Bactériologie, CHU de Besançon, Besançon, France

L'émergence de souches multirésistantes de *Pseudomonas aeruginosa* constitue un sujet d'inquiétude primordial, notamment pour les patients atteints de la mucoviscidose. En l'absence de réelles innovations thérapeutiques, le traitement des infections à *P. aeruginosa* repose sur des antibiotiques dont l'utilisation doit être optimisée. Dans ce contexte, nous avons élaboré une stratégie thérapeutique antibactérienne visant à utiliser une molécule polycationique, la poly-L-Lysine (pLK) en combinaison avec des antibiotiques afin de contrer certains mécanismes majeurs d'antibiorésistance de *P. aeruginosa*. Nos travaux antérieurs avaient déjà mis en évidence l'effet anti-biofilm de cette molécule.

Dans cette étude, nos résultats montrent que la pLK est capable de perméabiliser les parois bactériennes de *P. aeruginosa* et facilite ainsi l'entrée des antibiotiques dans la bactérie et l'accès à leur cible. Malgré les résistances de certaines souches bactériennes dues à une altération de la porine D ou encore à une surproduction de systèmes d'efflux, nous avons démontré un effet synergique antibactérien *in vitro* et *ex vivo* en associant la pLK à certains antibiotiques.

Mots-Clés : Antibiorésistance, *Pseudomonas aeruginosa*, peptide cationique, association, antibiotique

*Correspondance : virginie.herve@univ-tours.fr

Les peptides antimicrobiens représentent-ils de bons candidats pour traiter les infections bactériennes chez les patients atteints de mucoviscidose ?

Albane Jouault^{1,2}, Gabrielle Dupuis^{1,2}, Inès Ben Hadj Kaddour^{1,2}, Zenghong Xu³, Aromal Asokan⁴, Vincent Aucagne⁴, Agnès F. Delmas⁴, Lhousseine Touqui^{1,2*}

¹*Centre de Recherche Saint-Antoine, Inserm, Sorbonne Université,*

²*Institut Pasteur, Mucoviscidose et Bronchopathies Chroniques, Département Santé Globale, 75012 Paris, France*

³*Jiangsu Key Laboratory of Zoonosis, Yangzhou University, Yangzhou, China*

⁴*Centre de Biophysique Moléculaire, CNRS, 45071 Orléans, France*

Chez les patients atteints de mucoviscidose (CF pour cystic fibrosis) de nombreux facteurs peuvent limiter l'activité des PAMs et il est par conséquent nécessaire d'explorer le potentiel thérapeutique des PAMs en prenant en compte les caractéristiques de la maladie. L'hyperproduction d'un mucus abondant et visqueux bronchique est une particularité de cette maladie. Pour notre étude nous avons sélectionné un PAM isolé de l'huitre, *Cg-BigDef1*, qui possède une activité bactéricide contre des souches de *Staphylococcus aureus* résistantes à la méthicilline (SARM) même à forte salinité (1), qui représente un premier obstacle à l'utilisation des PAMs chez les patients CF. Nous avons dans un premier temps montré que *Cg-BigDef1* conserve son activité en présence de cellules épithéliales bronchiques et de mucus artificiel CF. Les premiers résultats supportent donc la potentielle utilisation du peptide pour traiter les infections SARM dans un contexte CF. Nous avons dans un second temps observé une dégradation du peptide par les protéases présentes dans des expectorations de patients CF et le développement de résistance par certaines souches de *S. aureus*. Pour pallier à ces problèmes, des optimisations de l'utilisation des PAMs, telle que l'encapsulation dans des nanoparticules ou son association à des antibiotiques ou d'autres PAMs, sont explorées.

Mots-Clés : peptide antimicrobien, mucoviscidose, thérapie, résistance

Références :

(1) Loth K et al. The Ancestral N-Terminal Domain of Big Defensins Drives Bacterially Triggered Assembly into Antimicrobial Nanonets. *mBio*. 2019 Oct 22;10(5):e01821-19. doi: 10.1128/mBio.01821-19. PMID:31641083; PMCID: PMC6805989.

***Correspondance** : lhousseine.touqui@pasteur.fr

Pharmacokinetic study of a new pseudopeptide antibiotic and its effects on a murin model of osteoarticular *Staphylococcus aureus* infection

Jean-Baptiste Mascary^{1,2}, Valérie Bordeau¹, Irène Nicolas^{1,2}, Pierre Rocheteau², Brice Felden¹, Marie Clémence Verdier³, Vincent Cattoir^{1*}

¹Bacterial RNAs & Medecine (BRM), INSERM U1230, 35043 Rennes, France

²Olgram, 56580 Brehan, France

³INSERM, Centre d'Investigation Clinique, CIC 1414, F-35033 Rennes, France

Bacterial resistance to antibiotics is a major public health problem. It is urgent to develop novel alternative strategies against bacterial pathogens. New antibacterial peptides have been developed based on a toxin secreted by *Staphylococcus aureus* in our team [1]. These new cyclic pseudopeptides, and particularly pep16, have been shown to be effective against several antibiotic-resistant bacterial species (both Gram+ and Gram-) [2]. By using two clinical isolates of *S. aureus* (MSSA and MRSA), we will detail here: i) the *in vitro* activity of pep16, ii) the efficacy of pep16 on the intracellular survival of *S. aureus* in osteoblastic cells, iii) the effect of pep16 in a mouse model of *S. aureus* osteoarticular infections (associated with a high rate of chronicity/relapses) [3] and iv) the pharmacokinetics of these molecules in mice. Our work showed a bactericidal effect of pep16 against both clinical isolates, a decrease in the survival of *S. aureus* in osteoblasts as well as a decrease in the number of bacteria in mouse joints (for MRSA) after treatment with pep16. A slow increase in the average plasma concentration of pep16 is observed in animals with a Cmax of 6 µg/ml measured 12 hours after a subcutaneous single injection (10 mg/kg) in mice. Pep16 appears to be effective in both *in vitro* and *in vivo* models of *S. aureus* osteoarticular infections.

Mots-Clés : *S. aureus*, pseudopeptides, osteoarticular infection, murine model, pharmacokinetics

Références :

- [1]. Sayed, N., Jousselin, A., Felden, B. (2011). A cis-antisense RNA acts in trans in *Staphylococcus aureus* to control translation of a human cytolytic peptide. *Nat. Struct. Mol. Biol.* 19, 105–112.
- [2]. Nicolas, I., Bordeau, V., Bondon, A., Baudy-Floc'h, M., Felden, B. (2019). Novel antibiotics effective against gram-positive and -negative multi-resistant bacteria with limited resistance. *PLoS Biol.* 17, e3000337.
- [3]. Valour, F., Rasigade, J-P., Trouillet-Assant, S., et al. (2015). Delta-toxin production deficiency in *Staphylococcus aureus*: a diagnostic marker of bone and joint infection chronicity linked with osteoblast invasion and biofilm formation. *Clin. Microbiol. Infect.* 21, 568.e1–11.

*Correspondance : vincent.cattoir@chu-rennes.fr

Approches innovantes pour l'étude des PAMs

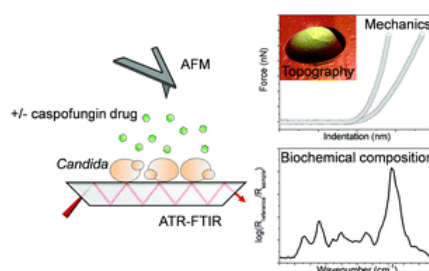
Antimicrobial agents, where do they bind, how do they act: analysis at the nanoscale

Fabienne Quilès¹, Grégory Francius¹, Audrey Beaussart², **Sofiane El-Kirat-Chatel**^{1*}

¹Laboratoire de Chimie Physique et Microbiologie pour les Matériaux et l'Environnement, LCPME-UMR7564-CNRS-Université de Lorraine, 54600 Villers les Nancy, France

²Laboratoire interdisciplinaire des environnements continentaux, LIEC-UMR7360-CNRS-Université de Lorraine, 54500 Vandoeuvre les Nancy, France

In the last two decades, atomic force microscopy (AFM) and vibrational spectroscopies have emerged as attractive tools to determine physico-chemical properties of biological samples [1]. The possibility to operate in physiological conditions is a major advantage of these approaches as it allows, *e.g.*, to follow changes upon exposure to external stresses. During this presentation, I will briefly present the different AFM modalities we are using to study microbial cells (imaging, single-molecule force spectroscopy and single-cell force spectroscopy) and I will illustrate the advantage of our approaches through two concrete examples: i) the analysis of the effect of caspofungin, an antifungal lipopeptide, on yeast cells [2,3]; and ii) the effect of squalamine, a steroid-polyamine with a spermidine motif, on bacterial cells. The combination of multiple-scales tools offers the possibility to determine the impact of external stress from the molecules to the microbial suspension and to explain phenotypes observed under cell treatments.



Mots-Clés : Atomic force microscopy, yeast, caspofungin, bacteria, squalamine

Références :

- [1] Beaussart A, Feuillie C and El-Kirat-Chatel S. The microbial adhesive arsenal deciphered by atomic force microscopy. *Nanoscale*, 2020, 12, 23885 – 23896.
- [2] El-Kirat-Chatel S, Beaussart A, Alsteens D, Jackson DN, Lipke PN and Dufrêne YF. Nanoscale analysis of caspofungin-induced cell surface remodelling in *Candida albicans*. *Nanoscale*, 2013, 5:3, 1105-1115.
- [3] Quilès F, Accoceberry I, Couzigou C, Francius G, Noël T and El-Kirat-Chatel S. AFM combined to ATR-FTIR reveals *Candida* cell wall changes under caspofungin treatment. *Nanoscale*, 2017, 9, 13731-13738.

*Correspondance : elkirat1@univ-lorraine.fr

Setting up an *in vivo* study of an antimicrobial peptide on murine models of lung infections

Céline Boidin-Wichlacz^{1*}, Teddy Grandjean¹, Marc Maresca², Muriel Pichavant¹, Arnaud Machelart¹, Stephane Canaan³, Priscille Brodin¹, Aurélie Tasiemski¹

¹*Center for Infection & Immunity of Lille, Inserm U1019, CNRS UMR9017, Université de Lille, Institut Pasteur de Lille, 59021 Lille, FRANCE*

²*ISM2, Biosciences, UMR CNRS 7313, Marseille 13090, France*

³*Laboratory of Engineering of Macromolecular Systems, CNRS-UMR 7255, Marseille 13009, FRANCE*

The spread of antibiotic resistant-pathogens is driving the search for new antimicrobial compounds. Pulmonary infections experienced by cystic fibrosis (CF) and/or by tuberculosis patients are dramatic examples of this health-care emergency. Even if AMPs emerged as promising therapeutic agents for the treatment of infectious diseases, animal studies remain scarce. In this presentation we will discuss the different steps involved in setting up *in vivo* tests (Maximum Tolerated Dose Pharmacokinetic and Proof Of Concept) on mouse models infected with *Pseudomonas aeruginosa* or *Mycobacterium tuberculosis*. The use of *in vitro* data (antimicrobial assays, cytotoxic assays on mammalian cell lines...) to refine the strategy, the modalities of infection, the synthesis of the peptide, the legislation as well as the cost will be discussed through an example set up in the laboratory with a recently patented AMP identified from an extremophilic worm.

Mots-Clés : multi Drug-resistant bacteria, Nontoxic , Maximum-Tolerated Dose, Pharmacokinetics, pulmonary diseases

*Correspondance : celine.wichlacz@cnrs.fr

The antibacterial properties of multiple antigenic peptides (MAP) based on polyarginine: *in vitro* MIC evaluation and molecular dynamic simulations

Lebaudy Eloïse^{1,2}, Barbault Florent³, Petit Lauriane^{1,2}, Engin Vrana⁴, Lavalley Philippe^{1,2,4*}

¹Inserm UMRS 1121, Biomaterials and Bioengineering, Centre de Recherche en Biomédecine de Strasbourg, 67000 Strasbourg, France

²Faculté de Chirurgie dentaire, Université de Strasbourg, 67000 Strasbourg, France

³ITODYS, CNRS UMR 7086, Université de Paris, 75013 Paris, France

⁴SPARTHA Medical, Centre de Recherche en Biomédecine de Strasbourg, 67000 Strasbourg, France

Every day, 20% of hospital patients in Europe develop Healthcare associated infections (HAIs). To prevent the infection risks, current strategies are based on administration of antibiotics. However, many bacteria have developed resistance against antibiotics. It is necessary to find new solutions to decrease the infection risk but more importantly to decrease the bacteria resistance.

Previously studies in our lab presented the strong antibacterial properties of homopolypeptides like polyarginine (PAR)^{1,2}. Bacteria are not able to acquire resistance towards this polycation. Moreover, this polycation, in combination with a natural polysaccharide like hyaluronic acid, can be used as coatings using the layer-by-layer technique. The positive charges of PAR can interact with negative charges of hyaluronic acid via electrostatic interactions. The assembly of these two molecules leads to the building of an antibacterial coating on every kind of surfaces and with controllable thicknesses. The antibacterial activity of PAR depends on the number of arginine residues on the chain. Thus, coatings composed of PAR with 30 arginine residues (PAR30) show strong antibacterial activity³. Smaller and bigger PAR chains have no or limited less antibacterial properties: bigger one because of their low mobility inside the film, and smaller chains due to the too thin thickness of the coating.

From these results, we wondered if the structure of the PAR has also an impact on the antibacterial properties. Thus, we studied multiple antigenic peptides (MAP) composed of arginine residues that are attached in a branched structure. The center of the MAP is composed of lysine that enables the incorporation of several PAR arms with different lengths. The minimal inhibitory concentrations (MICs) of these peptides were studied in solution and compared to linear PAR. The MIC of peptide composed of 4 arms of 5 arginine residues (R5MAP4) is around 7 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ whereas the MIC of linear PAR of 20 arginine residues (PAR20) is 11 $\mu\text{g.mL}^{-1}$. More surprisingly, MIC of MAP composed of 8 arms of 8 arginine residues (R8MAP8) is around 49 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ which is much bigger than MIC of R5MAP4.

To understand the difference of the antibacterial properties of peptides observed *in vitro*, molecular dynamic simulations were developed. These simulations were used to see the interaction between the bacterial membrane of gram-negative bacteria *P. aeruginosa* and the peptide. A better adsorption of the R5MAP4 peptide on the bacterial membrane compared to PAR20 or R8MAP8 was observed. Moreover, R5MAP4 caused the highest mechanical stress and the larger deformation of the bacterial membrane which can be correlated with the results observed *in vitro*.

Finally, MAPs are promising for the development of new antibacterial materials for medical applications. They can be easily used in layer-by-layer coatings. Moreover, molecular dynamic simulation is an interesting approach to study the interactions of newly designed peptides and bacterial membrane.

Références: 1. Séon L, Lavalley P, Schaaf P, Boulmedais F, Langmuir, 31, 12856-12872, 2015 // 2. Zahouani S, Chaumont A, Senger B, Boulmedais F, Schaaf P, Jierry L, Lavalley P, ACS Applied Materials & Interfaces, 22, 14985-14965, 2015 // 3. Mutschler A, Tallet L, Rabineau M, Dollinger C, Metz-Boutigue MH, Schneider F, Senger B, Vrana NE, Schaaf P, Lavalley P, Chemistry of Materials. 28, 8700-8709, 2016

*Correspondance eloise.lebaudy@etu.unistra.fr ; philippe.lavalley@inserm.fr

Real-Time Fluorescence Microscopy on Living *E. coli* to monitor membrane permeabilizations. Example with the King Penguin's β -Defensin AvBD103b

Céline Landon^{1,2*}, Yanyu Zhu^{1,†}, Mainak Mustafi^{1,‡}, Jean-Baptiste Madinier², Dominique Lelièvre², Vincent Aucagne², Agnès F. Delmas², James C. Weisshaar¹

¹Department of Chemistry, University of Wisconsin-Madison, Madison, WI 53706, USA

²Center for Molecular Biophysics, CNRS, 45071 Orléans, France

[†]Present address: Dept of Bioengineering, Stanford University, Stanford, CA, USA

[‡]Present address: Dept of Biochemistry & Molecular Biophysics, Columbia University, NY, USA

Antimicrobial peptides (AMPs) are a promising alternative to conventional antibiotics. Of particular interest among AMPs is the 38-residue disulfide-rich cationic protein AvBD103b from the king penguin [1-3]. Unlike most other β -defensins in its family, its antibacterial activities are not inhibited by salts. This advantage can be used to design highly effective antibiotics capable of fighting pathogens that thrive in salt-rich body fluids (for ex. in cystic fibrosis patients).

Understanding how AMPs work in nature is the first essential step towards rational engineering of highly effective compounds for clinical use. However, data for non-membrane-disruptive AMPs such as β -defensins are scarce, thus they remain poorly understood. By single-cell fluorescence imaging [4], we monitored the effects of AvBD103b in real time, on live *E. coli*, and at physiological salt concentration [5]. We obtained the first key parameters of the mechanism of action at the molecular level. AvBD103b induces partial and transient permeabilization of

E. coli outer and cytoplasmic membranes, suggesting that it could reach the cytoplasm and interact with various polyanionic targets. Auspiciously, its mechanism does not involve stereoselective interaction with chiral partners at any stage of the process, thus its probability of inducing bacterial resistance is low.

Mots-Clés : Fluorescence microscopy, real-time, Defensin, mechanism of action

Références :

- [1] Thouzeau et al. Polar Biol 2003, 26: 115
- [2] Thouzeau et al. JBC 2003, 278, 51053
- [3] Landon et al. JBC 2004, 279, 30433
- [4] Choi et al. Trends in microbiology 2016, 24, 111
- [5] Landon et al. IJMS 2022, 23(4), 2057.

***Correspondance :** celine.landon@cnrs-orleans.fr

Mécanistiques des PAMs

Mécanisme d'action d'un PAM déterminé par RMN solide *in vivo*

Laila ZAATOUF^{1*}, Marine COSSET¹, Thierry DRUJON¹, Emmanuelle SACHON¹, Astrid WALRANT¹, Dror WARSCHAWSKI¹

¹*Laboratoire des biomolécules (LBM), Sorbonne université, 75005 Paris, France*

Staphylococcus aureus est une bactérie pathogène de type Gram positive qui est résistante à une large gamme d'antibiotiques. Le DMS-DA6-NH₂ (DA6) est un nouveau peptide antimicrobien (PAM) qui a une grande efficacité sur diverses souches bactériennes (1). La Résonance Magnétique Nucléaire (RMN) *in vivo* du ²H à l'état solide permet d'étudier le mode d'action de PAMs qui perturbent la membrane bactérienne (2-3). Nous avons optimisé les conditions de culture de la bactérie avec l'acide palmitique deutéré (AP-d₃₁), dans le but d'en marquer les lipides. Le spectre de RMN solide *in vivo* du ²H se caractérise alors par un pic central entouré de bandes de rotation de part et d'autre, dont on peut mesurer le moment spectral M² qui est relié à la rigidité membranaire (2). On observe alors que la rigidité membranaire diminue progressivement lorsqu'on augmente la concentration de DA6. Ces résultats ont été comparés avec ceux de PAMs dont le mode d'action est déjà connu (3). On en déduit que le PAM DA6 a un effet de pore sur la membrane de *S. aureus*.

Mots-Clés : *Staphylococcus aureus*, membrane, DMS-DA6-NH₂, mécanisme d'action, Résonance Magnétique Nucléaire

Références :

(1) Cardon S., Sachon E., Carlier L., Drujon T., Walrant A., Aleman-Navarro E., Martinez-Osorio V., Guianvarch D., Sagan S., Fleury Y., Marquant R., Plesse C., Rosenstein Y., Auvynet C., Lacombe C., PLoS ONE 13:e0205727 (2018).

(2) Warnet X., Laadhari M., Arnold A., Marcotte I., and Warschawski D. Biochimica et Biophysica Acta, 1858:146-152(2016).

(3) Laadhari M., Arnold A., E. Gravel A., Separovic F., Marcotte I. Biochimica et Biophysica Acta 1858:2959-2964 (2016).

***Correspondance :** laila.zaatouf@sorbonne-universite.fr

Mechanical and structural investigations of two antimicrobial peptides synergism for modern therapeutic approaches

Adrien Gebus^{1*}, Elise Glattard¹, Jésus Raya¹, Ahmad Saad¹, Burkhard Bechinger^{1,2}

¹Université de Strasbourg, CNRS, UMR7177, Institut de Chimie, 4, Rue Blaise Pascal, 67070 Strasbourg, France

²Institut Universitaire de France

In response of the increasing resistance of more and more pathogenic microorganisms to conventional antibiotics [1], our project aims to discover new concepts: how multiresistant bacteria could be eliminated. Two antimicrobial peptides discovered in the skin of the African clawed frog, PGLa and magainin 2, interact with lipid bilayers [2-5] where these peptides show remarkable synergistic antimicrobial activities [6] which looks optimal at a 1:1 molar ratio [4]. The principal idea of these works is to characterize the mechanism of interaction between these two amphiphilic antimicrobial peptides. We firstly produced ¹³C/¹⁵N labelled peptides with excellent yield (between 7 and 18 mg of peptide per liter of culture). These peptides are reconstituted into POPE/POPG (ratio 3:1) lipid bilayers, a close mimetic of bacterial membranes, and analyzed by MAS solid-state NMR spectroscopy. Such experiments are capable to reveal at an atomic level secondary structures, intra- and intermolecular distances and thus the peptide-peptide and peptide-lipid interactions driving synergism [7]. Moreover, to deepen the dynamics of these interactions, we modeled these molecules *in silico* and calculate their trajectory by molecular dynamics. The combination of NMR data with molecular dynamics simulations promises insights into the key interactions at high resolution.

Mots-Clés : synergism, MAS ssNMR, molecular dynamics, membrane/peptide, interaction

Références :

1. World Health Organization. (2014). Antimicrobial resistance: global report on surveillance. World Health Organization.
2. Matsuzaki, K., Mitani, Y., Akada, K. Y., Murase, O., Yoneyama, S., Zasloff, M., & Miyajima, K. (1998) *Biochemistry*, 37(43), 15144-15153.
3. Gesell, J.J., Zasloff, M., Opella, S.J. (1997) *J Biomol NMR* 9: 127-135.
4. Zasloff, M. (1987) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 84,5449-5453.
5. Hoffmann, W., Richter, K., & Kreil, G. (1983) *EMBO J.* 2,711-714.
6. Glattard, E., Salnikov, E. S., Aisenbrey, C., & Bechinger, B. (2016) *Biophys. Chem.*, 210, 35-44.
7. Salnikov, E. S., & Bechinger, B. (2011) *Biophys. J.*, 100(6), 1473-1480.

*Correspondance : adrien.gebus@etu.unistra.fr

Mechanism of action of defensin ETD151 on *Botrytis cinerea*: insights on the interaction with Glucosylceramides

Ons Kharrat¹, Françoise Paquet¹, Yoshiki Yamaryo-Botte², Rouba Nasreddine³, Sébastien Voisin⁴, Jean-Baptiste Madinier¹, Thomas Aumer⁵, Reine Nehme³, Vincent Aucagne¹, Cyrille Botte², Philippe Bulet⁴, Céline Landon^{1*}

¹Centre de Biophysique Moléculaire, 45071 Orléans

²Institute for Advanced Biosciences, 38700 Grenoble

³Institut de Chimie Organique et Analytique, 45100 Orléans

⁴Plateforme BioPark, 74160 Archamps

⁵Current address: EurofinsBactup

Resistance to chemical fungicide by plant pathogenic fungi is a rising threat for crops in agriculture [1]. Thus, proposing novel fungicides with innovative mechanisms of action or alternative strategies is a major challenge. *Botrytis cinerea*, responsible for gray mold disease, causes devastating diseases and significant crop losses in a numerous plant species. Fungal cerebrosides, such as glucosylceramides (GlcCer), associated with fungal growth and pathogenesis, have been reported as a potential target for antifungal peptides [2]. The ETD151 antifungal defensin [4], optimized from butterflies, has been proposed to interact specifically with fungal GlcCer [5], before internalizing and reaching multiple intracellular targets [5].

Our objective is to increase insight in this first step of the mechanism of action of ETD151, the interaction with GlcCer. The present study aimed to (A) elucidate the chemical structure of GlcCer from *B. cinerea* by combining chromatographic and mass spectrometric techniques (TLC, LC-MS/MS and GC-MS). Our results show that the main GlcCer^{*Botrytis cinerea*} is close to that of commercially available GlcCer from soybeans; to (B) estimate by MicroScale Thermophoresis (MST) the binding affinity of ETD151 to GlcCers. ETD151 exhibits 100-fold and 10-fold higher binding affinities for liposomes containing 10% GlcCer^{*Botrytis cinerea*}, compared to control Phosphatidylcholine liposomes or liposomes containing 10% GlcCer^{*Soybeans*}; to (C) map at the atomic scale which residues of ETD151 is disturbed by the presence of GlcCer (commercial GlcCer^{*Soybeans*}), by NMR.

Mots-clés : Fungal Glucosylceramide, insect defensin, Microscale thermophoresis, Binding affinity, Peptide-lipid interaction

Références :

[1] van Kan, J. A. L. Licensed to Kill: The Lifestyle of a Necrotrophic Plant Pathogen. Trends Plant Sci. 2006, 11 (5), 247–253.

[2] Thevissen K. et al, J Biol Chem (2004) 279: 3900-3905.

[3] M. Rautenbach, et al, Antifungal peptides: To be or not to be membrane active. Biochimie 130, 132–145 (2016).

[4] Landon C, et al, Protein Science (2004) 13 : 703-713.

[5] Aumer T, PhD thesis (2019) Université Grenoble Alpes.

*Correspondance : celine.landon@cnrs-orleans.fr

AntibioDEAL : un réseau national dédié à la découverte de nouveaux antimicrobiens

Emmanuel Vicquelin¹, **Florie Desriac**¹, Philippe Bulet², Yannick Fleury³

¹*UR Communication Bactérienne et Stratégies anti-infectieuses (UR4312), Université Caen Normandie, 14000 Caen, France*

²*CR UGA, Inserm U1209, CNRS UMR5309, 74160 Archamps, France*

³*Laboratoire de Biotechnologie et Chimie Marines (UR3884), Université de Brest, 29 000 Quimper*

Le pipeline préclinique et clinique antibactérien est reconnu comme insuffisant depuis deux décennies et est principalement supporté par de petites et moyennes entreprises (PMEs)¹. Cette structuration atypique de la R&D, exacerbe les lacunes financières et techniques permettant l'innovation en particulier dans les premières étapes de la recherche de nouveaux antibactériens². Dans ce contexte, AntibioDEAL s'attache à structurer au niveau national la recherche académique précoce de composés antibactériens novateurs et à accélérer le transfert de technologie. Afin d'atteindre ses objectifs, cinq groupes de travail ont été définis au sein d'AntibioDeal : (1) découverte de nouveaux composés, (2) optimisation des composés, (3) du préclinique au clinique, (4) stratégie de valorisation et propriété intellectuelle, et (5) approche « Une santé unique globale » du développement. Notre premier évènement se tiendra en mars 2023 afin de regrouper les principaux acteurs des secteurs de la santé animale, humaine et environnementale.

Mots-Clés : Résistances aux antimicrobiens (AMR), antibiotiques, alternatives, découverte, préclinique

Références :

¹ WHO antibacterial preclinical pipeline review. <https://www.who.int/observatories/global-observatory-on-health-research-and-development/monitoring/who-antibacterial-preclinical-pipeline-review>.

² Miethke, M. *et al.* Towards the sustainable discovery and development of new antibiotics. *Nat. Rev. Chem.* **5**, 726–749 (2021).

***Correspondance :** antibiodeal@unicaen.fr

Multifonctions des PAMs

Développement de nouvelles approches applicatives pour la microcine L : de sa production à ses propriétés biologiques

Charlotte Roupie^{1,2*}, Julien Cherfan¹, Valérie Sopena¹, Laurent Billon², Isabelle Lanneluc¹, Sophie Sablé¹, Ingrid Arnaudin¹

¹LIENSs, Université de La Rochelle, 17000 La Rochelle, France

²PREM, Université de Pau et des Pays de l'Adour, 64053 Pau, France

L'utilisation massive d'antibiotiques a favorisé l'émergence de souches bactériennes (multi)résistantes. Pour pallier ce phénomène, l'utilisation de peptides antimicrobiens (PAMs) pourrait être une alternative très prometteuse. Parmi eux, la microcine L (Mcc L), produite par *Escherichia coli* LR05, est composée de 90 acides aminés dont 46,7 % sont hydrophobes ¹. Son activité antibactérienne, dirigée contre les bactéries à Gram négatif, résulte de sa liaison avec la membrane du microorganisme de manière à perturber son potentiel membranaire ².

Le projet porté par les laboratoires LIENSs et IPREM repose sur le développement de nouvelles approches applicatives autour de la Mcc L dans le but de la fonctionnaliser sur différents (bio)matériaux. Les caractéristiques particulières de la Mcc L telles que sa charge négative à pH physiologique et sa résistance aux hautes températures pourraient faciliter sa fonctionnalisation ¹. A ce jour, la production de la Mcc L a été optimisée grâce au suivi de croissance de la souche productrice, en faisant le parallèle avec l'activité antibactérienne de son surnageant. Les tests microbiologiques révèlent une forte activité contre *Shigella sonnei* et plusieurs souches d'*E. coli* entéropathogènes. Enfin, les résultats préliminaires des tests de cytotoxicité sur des cellules eucaryotes sont encourageants.

Mots-Clés : microcine L, purification, activité antibactérienne, cytotoxicité

Références :

¹. Pons, A.-M. *et al.* Genetic Analysis and Complete Primary Structure of Microcin L. *Antimicrob Agents Chemother* **48**, 505–513 (2004).

². Morin, N. *et al.* Mechanism of Bactericidal Activity of Microcin L in *Escherichia coli* and *Salmonella enterica*. *Antimicrob Agents Chemother* **55**, 997–1007 (2011).

*Correspondance : charlotteroupie@gmail.com

La Ruminococcine C1 : un sactipeptide multifonctionnel pour la santé humaine

Clarisse Roblin^{1*}, Steve Chiumento², Cédric Jacqueline³, Eric Pinloche⁴, Cendrine Nicoletti¹, Elise Courvoisier-Dezord¹, Agnès Amouric¹, Christian Basset², Louis Dru^{1,2}, Marie Ollivier⁵, Aurélie Bogey-Lambert⁵, Nicolas Vidal⁶, Marc Maresca¹, Estelle Devillard⁴, Victor Duarte², Josette Perrier¹, Mickael Lafond¹

¹CNRS, Aix-Marseille University, Centrale Marseille, iSm2, 13013 Marseille, France

²University Grenoble Alpes, CEA, IRIG, CBM, CNRS UMR5249, 38054 Grenoble, France

³EA3826, IRS2 Nantes-Biotech, Université de Nantes, 44200 Nantes, France

⁴Centre d'Expertise et de Recherche en Nutrition, ADISSEO France SAS, 03600 Commentry, France

⁵BioAzur Biogroup-Vet'Analys Laboratory, 83400 Hyères, France

⁶Yelen Analytics, Aix-Marseille University ICR, 13013 Marseille

La souche E1 du symbiote intestinal humain *Ruminococcus gnavus* produit le sactipeptide Ruminococcine C, sous la forme de 5 isoformes (RumC1-5). Précédemment, nous avons extraits RumC1-5 à partir de contenus caecaux de rats mono-colonisés par *R. gnavus* E1⁽¹⁾. D'autre part, nous avons développé un système de co-expression hétérologue du précurseur de RumC1 et de sa maturase permettant d'obtenir des quantités suffisantes de RumC1 mature pour caractériser sa structure et son activité *in vitro* et *in vivo*⁽¹⁻³⁾. Ces études ont montré l'intérêt indéniable de RumC1 comme stratégie thérapeutique et ont mis en évidence la multifonctionnalité de ce peptide. En effet, RumC1 a permis de sauver un modèle murin d'une péritonite létale à *Clostridium perfringens*, avec une dose inférieure à la vancomycine. D'autre part, il a été montré que RumC1 est capable d'éliminer ce même pathogène d'une communauté microbienne intestinale complexe et engendre une variation mineure sur la distribution globale de la communauté impactant positivement l'écologie microbienne. En parallèle, il a été mis en évidence que RumC1 possède d'autres types d'activités biologiques telles des activités antifongique sélective, anti-inflammatoire et pro-cicatrisation.

Mots-Clés : antibiotique, RiPP, sactipeptide, microbiote, *Ruminococcus gnavus* E1

Références :

1 Chiumento, S.; Roblin, C.; Kieffer-Jaquinod, S. et al. Ruminococcin c, a promising antibiotic produced by a human gut symbiont. *Sci. Adv.* **2019**, *5*, eaaw9969.

2 Roblin, C.; Chiumento, S.; Bornet, O. et al. The unusual structure of Ruminococcin C1 antimicrobial peptide confers clinical properties. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2020**, *117*, 19168–19177.

3 Roblin, C.; Chiumento, S.; Jacqueline, C. et al. The multifunctional sactipeptide Ruminococcin C1 displays potent antibacterial activity in vivo as well as other beneficial properties for human health. *Int. J. Mol. Sci.* **2021**, *22*, 3253.

*Correspondance : clarisse.roblin@univ-amu.fr

Les peptides « Bacteriocyte-specific Cystein-Rich » : une nouvelle famille de défensine : régulateurs de la symbiose chez les pucerons ?

Hugo Terrasson^{1*}, Karine Loth^{2,3}, Nicolas Parisot¹, Françoise Paquet², Isabelle Rahioui¹, Karen Gaget⁴, Gabrielle Duport⁴, Vincent Aucagne², Agnes Delmas², Abdelaziz Heddi¹, Mélanie Ribeiro Lopes¹, Federica Calevro⁴, Pedro da Silva¹

¹Univ Lyon, INSA Lyon, INRAE, BF2I, UMR 203, F-69621, Villeurbanne, France

²Centre de Biophysique Moléculaire, CNRS UPR 4301, Orléans, France

³UFR Sciences et Techniques, Université d'Orléans, Orléans, F-45071, France

⁴Univ Lyon, INRAE, INSA Lyon, BF2I, UMR 203, F-69621, Villeurbanne, France

Les pucerons vivent en association symbiotique obligatoire avec la bactérie *Buchnera aphidicola* qui leur apporte les éléments nutritifs indispensables à leur croissance et à leur développement. Ces endosymbiotes vivent dans des cellules hôtes spécialisées nommées bactériocytes. Des études récentes ont montré que des protéines riches en cystéines appelées Bacteriocyte-specific Cysteine-Rich (BCR), exprimées exclusivement dans les bactériocytes sont de bons candidats à la régulation de la dynamique bactériocytaire et symbiotique. En utilisant les séquences connues des BCRs chez *Acyrtosiphon pisum*, nous avons identifié 76 nouvelles séquences « BCR-like », découvertes uniquement dans la famille des Aphididae. Nous avons ainsi pu construire l'arbre phylogénétique des BCRs, et discriminer 4 sous-familles de BCR. De plus, l'analyse de la structure tridimensionnelle de BCR4 déterminée par RMN, nous a permis de montrer que BCR4 est le premier membre d'une nouvelle famille structurale de défensine jamais observée jusqu'à présent. Nous avons également montré que BCR4 possède une activité bactéricide contre *Escherichia coli* ainsi qu'une forte activité insecticide contre le puceron du pois. Ces résultats suggèrent que les BCRs joueraient un rôle crucial dans la physiologie du puceron du pois, peut-être en régulant ses populations d'endosymbiontes.

Mots-Clés : puceron, bacteriocyte-specific cysteine-rich, phylogénie, défensine

Références :

Loth, K., Parisot, N., Paquet, F., Sivignon, C., Rahioui, I., Ribeiro Lopes, M., Gaget, K., Duport, G., Delmas, A., Aucagne, V., Heddi, A., Calevro, F., da Silva, P. (2022). The aphid BCR4 structure and activity uncover a new defensin peptide superfamily. bioRxiv, doi: 10.1101/2021.12.17.472939.

*Correspondance : hugo.terrasson@insa-lyon.fr

Le double jeu de l'hepcidine

Catherine Mura^{1*}

¹INEM UMR7355, CNRS, Université d'Orléans, 45071 Orléans, France

L'hepcidine est un peptide antimicrobien avec des fonctions connues dans la régulation de l'homéostasie du fer. Ce double jeu de l'hepcidine résulte de son action antibactérienne et du contrôle de la ferroportine, seul exportateur de fer cellulaire. Chez les mammifères en conditions physiologiques normales, l'hepcidine est synthétisée majoritairement par le foie, mais est aussi détectée dans différents tissus et fluides. Les macrophages, qui assurent 90% du recyclage du fer et qui sont impliqués dans la réponse immune innée, expriment l'hepcidine de manière différentielle en fonction du profil phénotypique des macrophages. L'hepcidine exprimée par les macrophages serait impliquée dans la défense de l'organisme contre les agents pathogènes par son action antimicrobienne directe et par sa contribution à l'immunité nutritionnelle, mais pourrait aussi jouer un rôle important dans la régulation systémique de l'homéostasie du fer. L'activité intracellulaire de l'hepcidine vis-à-vis des pathogènes et le mode de régulation autocrine dans le contrôle du trafic du fer méritent d'être étudiés.

Mots-Clés : hepcidine, homéostasie du fer, inflammation, phénotype des macrophages

Références :

- Agoro R, **Mura C** (2016) Inflammation-induced up-regulation of hepcidin and down-regulation of ferroportin transcription are dependent on macrophage polarization. *Blood Cells Mol. Dis.* 61: 16-25.
- Agoro R, Taleb M, Quesniaux VFJ, **Mura C** (2018) Cell iron status influences macrophage polarisation. *Plos One* 13(5):e0196921. doi: 10.1371/journal.pone.0196921.
- Taleb M, Maillet I, Le Bert M, **Mura C** (2022) Targeted autophagy disruption reveals the central role of macrophage iron metabolism in systemic iron homeostasis. *Blood* 140(4): 374-387.

*Correspondance : catherine.mura@cnrs-orleans.fr

Trick or treat? La sorcellerie anti-biofilm des bactéries marines

Alain Dufour^{1*}, Albane Jouault^{1,2,3}, Sophie Rodrigues¹, Clément Offret¹, Yannick Fleury⁴, Alexis Bazire¹

¹Laboratoire de Biotechnologie et Chimie Marines (LBCM), ER 3884, Université de Bretagne-Sud, IUEM, 56100 Lorient

²Mucoviscidose et Bronchopathie Chroniques, Département Santé Globale, Institut Pasteur, Paris

³Mucoviscidose : Phénotypique et Phénogénomique, Centre de Recherche Saint-Antoine, Sorbonne Universités, UPMC Univ Paris 06, INSERM, Paris

⁴Laboratoire de Biotechnologie et Chimie Marines (LBCM), ER 3884, Université de Bretagne Occidentale, IUEM, 29000 Quimper

Certaines souches de bactéries marines appartenant notamment au genre *Pseudoalteromonas* sont douées d'activités anti-biofilm s'exerçant vis-à-vis d'une large gamme d'autres bactéries (incluant des bactéries terrestres pathogènes telles que *Pseudomonas aeruginosa*).

Comment exercent-elles ce tour ?

Des réponses (peut-être) dans cette présentation ...

Mots-Clés : biofilm, activité anti-biofilm, bactéries marines, *Pseudoalteromonas*, altéroïcine

Référence :

Jouault *et al.* 2020. Applied Environ Microbiol 86, e00893-20.

***Correspondance :** alain.dufour@univ-ubs.fr

PEPTIDES, A MANIFESTO

Philippe Karoyan*

LABORATOIRE DES BIOMOLECULES – LBM, UMR7203 FR2769, Sorbonne Université, Campus Pierre et Marie Curie, UMR 7203 FR2769, 75000 Paris.



Site Oncodesign – 25-27 Avenue du Québec, 91140 Villebon sur Yvette

The development of therapeutic peptides, long neglected by the pharmaceutical industry due to their modest pharmacokinetic profile, is gaining momentum thanks to scientific advances, from design to formulation.¹ Our team, which is interested in peptide drugs, has adopted a strategy using algorithms and cut-offs to accelerate the design and industrial development process of our tools. Results obtained with peptides capable of blocking the infection of human lung cells by SARS-COV-2² and peptides capable of triggering immunogenic cell death in cancer cells³ will be presented.

Mots-Clés : Peptide Drugs, SARS-COV-2, Cancer, Immunogenic cell death.

Références :

¹Peptides, a manifesto, Karoyan & al, *submitted*.

²Human ACE2 peptide mimics block SARS-CoV-2 Pulmonary Cells Infection, Karoyan, P.; Vieillard, V.; Gómez-Morales, L.; Odile, E.; Guihot, A.; Luyt, C-E.; Denis, A.; Grondin, P. Lequin, O. COMMUNICATIONS BIOLOGY | (2021)4:197 | <https://doi.org/10.1038/s42003-021-01736-8> | www.nature.com/commsbio

³A. PKHB1, a thrombospondin-1 peptide mimic, induces anti-tumor effect through immunogenic cell death induction in breast cancer cells, Kenny Misael Calvillo-Rodríguez, Rodolfo Mendoza-Reveles, Luis Gómez-Morales, Ashanti Concepción Uscanga-Palomeque, Philippe Karoyan, Ana Carolina Martínez-Torres (2022) *Oncolmmunology*, 11:1, 2054305, DOI: 10.1080/2162402X.2022.2054305, B. Homotrimerization Approach in the Design of Thrombospondin-1 Mimetic Peptides with Improved Potency in Triggering Regulated Cell Death of Cancer Cells, Denèfle, T.; Pramil, E. ; Gómez-Morales, L. ; Lévasseur, M.D. ; Lardé, E.; Newton, C.; Herry, H.; Herbi, H.; Lamotte, Y. ; Odile, E. Ancellin, N. ; Grondin, P. ; Martinez-Torres, A-C. ; Viviani, F. ; Merle-Beral, H. ; Lequin, O. ; Susin, S-A. ; Karoyan, P. DOI: 10.1021/acs.jmedchem.9b00024. *J. Med. Chem.* **2019**, 62 (17), 7656-7668. C-Targeting chronic lymphocytic leukemia with N-methylated thrombospondin-1-derived peptides overcomes drug resistance. Pramil, E.; Herbi, L.; Denèfle, T.; Nemat, F.; Xiao, M.; Lardé, E.; Maloum, K.; Roos-Weil, D.; Chapiro, E.; Le Garff-Tavernier, M.; Davi, F.; Decaudin, D.; Sarfati, M.; Nguyen-Khac, F.; Merle-Béral, H.; Karoyan, P.; Susin, SAS. *Blood Advances*, **2019**, Oct 22;3(20):2920-2933.

***Correspondance :** pk@chi-pharma.com, philippe.karoyan@pepkon.com,
philippe.karoyan@sorbonne-universite.fr

RESUMÉS

POSTERS

Identification of new defensins in the King penguin by LC-MS/MS: a step forward to overcome antibioresistance.

Bastien Arnaud^{1,2}, Adrien Brown³, Philippe Bulet^{4,5}, Fabrice Bertile^{3*}

¹Inovarion, Paris, France

²Strasbourg Drug Discovery and Development Institute (IMS)

³CNRS/Université de Strasbourg, IPHC-LSMBO, UMR 7178, Strasbourg

⁴CR Université Grenoble Alpes, IAB, Inserm U1209, CNRS UMR 5309, La Tronche

⁵Plateforme BioPark d'Archamps, Archparc, 74160 Saint Julien en Genevois

In the early 2000s, we have fully characterized two Spheniscins (Sphe) in the King penguin (*A. patagonicus*), members of the avian β -defensins¹, which proved to be active against G+, G- bacteria, yeasts and filamentous fungi, even at a high salt concentration². Here, our aim was to analyze their structural diversity in penguin tissues through the refinement of the King penguin genome annotation and MS-based analysis (nanoElute/timsTof Pro system). From a successfully built protein database enriched with 17 new putative β -defensins additional to the 8 already annotated, the combination of Mascot searches and *de novo* sequencing (Novor v1.1 and blastp v2.12.0) allowed detection of 25 defensins. *De novo* sequencing not only allowed to specifically detect several defensins but also to increase their sequence coverage. Tissue specificity could be noticed. These results will be used to gain insights into structure/function relationship of the Sphe. Our analytical strategy is the first step to decipher their mechanisms of action, which are expected to have a low probability of inducing resistance, and to be a promising avenue to tackle the challenge of increasing emergence and spread of antimicrobial resistance.

Mots-Clés : bioinspiration, mass spectrometry, protein database, *de novo* sequencing, bottom-up proteomics

Références :

1 Thouzeau et al., J Biol Chem 2003, DOI:10.1074/jbc.M306839200.

2 Landon et al., J Biol Chem 2004, DOI:10.1074/jbc.M401338200.

*Correspondance : fbertile@unistra.fr

Etude de voies de biosynthèse de dicétopipérazines

Priorisation par analyse de réseaux de similarité de séquences

Céline AUBRY^{1*}, Carine TELLIER-LEBEGUE¹, Muriel GONDROY¹, Pascal BELIN¹

¹*Institut de Biologie Intégrative de la Cellule, Université Paris-Saclay, CEA, CNRS, 91900 Gif-Sur-Yvette, France*

Parmi les métabolites spécialisés, les 2,5-dicétopipérazines (DKP) constituent un large groupe de molécules peptidiques aux activités biologiques d'intérêt. Un bon nombre de DKP sont produites par des voies de biosynthèse contenant des synthases de cyclodipeptides (CDPS) (1). Les CDPS utilisent deux ARNt aminoacylés comme substrats pour catalyser la formation de divers cyclodipeptides, qui peuvent alors être modifiés par une ou plusieurs enzymes de décoration pour donner des DKP complexes. Parmi les enzymes de décoration, des cytochromes P450 ont été fréquemment identifiés ; leur faible nombre caractérisé montre d'ores et déjà qu'ils catalysent des réactions d'oxydoréduction variées (2).

Nous avons procédé à une analyse de réseaux de similarité de séquence des cytochromes P450 qui sont associés à des CDPS dans les banques de données génomiques. Cela nous a permis de sélectionner plusieurs cytochromes P450 susceptibles d'avoir une activité originale. Nous avons ensuite mis en place une stratégie d'expression hétérologue des voies de biosynthèse contenant ces cytochromes P450 dans des souches de *Streptomyces*. Nous pourrions ainsi caractériser ces voies, c'est-à-dire déterminer les nouvelles DKPs produites, mais aussi caractériser de nouvelles réactions catalysées par les cytochromes P450.

Mots-Clés : Métabolites spécialisés, Expression hétérologue, Dicétopipérazines, Cytochrome P450, CDPS

Références :

(1) Canu N, Moutiez M, Belin P, Gondry M. Cyclodipeptide synthases: a promising biotechnological tool for the synthesis of diverse 2,5-diketopiperazines. Nat Prod Rep. 2020 Mar 25;37(3):312-321.

(2) Borgman P, Lopez RD, Lane AL. The expanding spectrum of diketopiperazine natural product biosynthetic pathways containing cyclodipeptide synthases. Org Biomol Chem. 2019 Feb 27;17(9):2305-2314.

*Correspondance : celine.aubry@i2bc.paris-saclay.fr

Structure and interactions with model membranes of toxins from toxin-antitoxin systems of *Staphylococcus aureus*

Laurence Fermon^{1,2}, Marie-Laure Pinel-Marie¹, Soizic Chevance², Arnaud Bondon^{2*}

¹Univ Rennes, INSERM, U1230 BRM, 35000 Rennes, France

²Univ Rennes, CNRS, ISCR UMR 6226, 35000 Rennes, France

Toxin-antitoxin systems are genetic modules widely spread in bacterial genomes. They contain a toxin, which stops the bacteria's growth when overexpressed and an antitoxin, which inhibits toxin's expression under normal conditions.

Staphylococcus aureus is a major human pathogen and one of the first cause of hospital-acquired infections. Several type I toxin-antitoxin systems have been discovered in *S. aureus* genome by bioinformatics analysis [1]. These systems are thought to be involved in the *S. aureus* pathogeny and antibiotic resistance. Notably, three of these toxins have been studied [2-4]: they are small cationic peptides structured in alpha helix. They show hemolytic activity against erythrocytes, while they do not exhibit effective antibacterial activity. How to explain this specificity of action?

To answer this question, we aim here to investigate the structure and the interactions between these toxins and membranes when overexpressed inside the bacteria, but also with model membranes in order to gain insight about the selectivity of these toxins for mammalian cell membranes *versus* bacterial cell membranes and so the possible virulence of these toxin.

Mots-Clés : membrane interactions, toxin-antitoxin systems, *S.aureus*

Références :

[1] Pichon, C. & Felden, B. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **102** (2005) 14249–14254.

[2] Sayed, N., Nonin-Lecomte, S., Réty, S. & Felden, B. *Journal of Biological Chemistry*, **287** (2012) 43454–43463.

[3] Pinel-Marie, M.-L., Brielle, R. & Felden, B. *Cell Reports*, **7** (2014) 424–435.

[4] Germain-Amiot, N. *et al. Nucleic Acids Research*, **47** (2019) 1759–1773.

*Correspondance : laurence.fermon@univ-rennes1.fr

Evaluation *in vitro* d'un peptide antimicrobien à activité anti-aspergillaire

Camille Rochard¹, Jeanne Bigot², Viviane Balloy¹, Philippe Bulet³, Loic Guillot¹, Christophe Hennequin², **Juliette Guitard**^{2*}

¹Centre de Recherche Saint-Antoine, 75012 Paris, France

²Sorbonne Université, Centre de Recherche Saint-Antoine, AP-HP, Hôpital Saint-Antoine, 75012 Paris, France

³Plateforme BioPark d'Archamps, 74160 Saint Julien en Genevois, France

L'arsenal antifongique est très limité. Par ailleurs, une émergence de la résistance d'*Aspergillus fumigatus* aux dérivés azolés a été observée au cours de la dernière décennie. Les peptides antimicrobiens apparaissent comme une approche thérapeutique prometteuse et pourraient constituer une alternative ou un complément aux traitements antifongiques conventionnels. L'objectif de cette étude était de caractériser l'effet anti-aspergillaire d'ETD151 dont l'activité antifongique a été montrée vis-à-vis du phytopathogène fongique *Botrytis cinerea*.

L'activité métabolique et la croissance d'*A. fumigatus* sont diminuées en présence du peptide avec une concentration minimale inhibitrice 50 évaluée à 6,25 μ M à 48 heures. Par ailleurs, les hyphes deviennent hyper-ramifiés et tortueux.

Ces résultats prometteurs doivent être confirmés sur un large panel de souches d'*A. fumigatus* sensible et résistantes aux dérivés azolés. L'analyse transcriptomique devrait permettre de mieux comprendre l'impact du peptide sur le champignon.

Mots-Clés : Peptide antimicrobien, *Aspergillus fumigatus*, traitement

Références :

Maitre et al. The European Respiratory Journal, 2021.

Meis et al. Biological Sciences, 2016.

Laverty et al. International Journal of Molecular Sciences, 2011.

Aumer et al, Journal of Proteome Research, 2020.

***Correspondance :** juliette.guitard@aphp.fr

3 axis for the discovery of new antimicrobial peptides : example of the study of *Paenibacillus alvei* B-LR secondary metabolism

Drago Haas^{1,2}, Valérie Schoen¹, Romain Chevrot^{2*}

¹SATT Aquitaine, 33405 + Talence, France

²Laboratoire LIENSs, Université de La Rochelle, 17000 La Rochelle, France

Paenibacillus are Gram+ bacteria known to produce antimicrobial peptides such as polymyxin and paenibacterin (Tambadou *et al.*, 2015) (Huang *et al.*, 2014). Many of these peptides are assembled by Non-Ribosomal Peptide Synthetases (NRPS). These large enzymatic systems are organized in building blocks, which are (theoretically) easy to reprogram to create unnatural peptides (Abbood *et al.*, 2022). Moreover, recent genome sequencing of *Paenibacillus* species systematically revealed rich secondary metabolism, with mostly unknown NRPS biosynthetic gene clusters (BGC). Here, we explore, compare, and alter NRPS genes of *Paenibacillus alvei* B-LR. We identified promising original BGC and discover that some already known clusters produces uncharacterized variants of PAM. We are also working on the genetic engineering of the polymyxin BGC in *P. alvei* BLR to create variant with reduced human toxicity.

Mots-Clés : *Paenibacillus*, NRPS, variant, polymyxin

Références :

Abbood N, Duy Vo T, Watzel J, Bozhueyuek KAJ, Bode HB. Type S Non-Ribosomal Peptide Synthetases for the Rapid Generation of Tailormade Peptide Libraries. *Chemistry*. May 6;28(26):e202103963. doi: 10.1002/chem.202103963. (2022).

Huang E, Guo Y, Yousef AE. Biosynthesis of the new broad-spectrum lipopeptide antibiotic paenibacterin in *Paenibacillus thiaminolyticus* OSY-SE. *Res Microbiol*. Apr;165(3):243-51. doi: 10.1016/j.resmic.2014.02.002. Epub 2014 Mar 5. (2014).

Tambadou F, Caradec T, Gagez AL, Bonnet A, Sopéna V, Bridiau N, Thiéry V, Didelot S, Barthélémy C, Chevrot R. Characterization of the colistin (polymyxin E1 and E2) biosynthetic gene cluster. *Arch Microbiol*. May;197(4):521-32. doi: 10.1007/s00203-015-1084-5. Epub 2015 Jan 22. (2015).

*Correspondance : romain.chevrot01@univ-lr.fr

Modulation du Microbiome par les bactéries du genre *Pseudoalteromonas* productrices d'altérines

Garance Leroy¹, Camille Jégou¹, Lucie Beaulieu², Sandrine Baron³, Yannick Fleury^{1*}

¹Laboratoire de Biotechnologie et Chimie Marines EA 3884, Université de Bretagne Occidentale, 29000 Quimper FRANCE

²Institut sur la Nutrition et les Aliments Fonctionnels (INAF), Université Laval, G1V 0A6 Québec CANADA

³Unité Mycoplasmodologie, Bactériologie et Antibiorésistance, Laboratoire de Ploufragan, Agence nationale de sécurité sanitaire et de l'alimentation (ANSES), 22000 Saint-Brieuc FRANCE

La production halieutique mondiale a atteint un record en 2020 avec 214 milliards de tonnes d'animaux aquatiques (178 millions) et d'algues (36 millions). L'aquaculture est un secteur de production clé pour assurer l'alimentation durablement une population en constante expansion (FAO, 2022).

Cinq souches du genre *Pseudoalteromonas* isolées à partir de l'hémolymphe de bivalves sains (Cuny *et al.*, 2021) produisent des peptides antimicrobiens, les altérines, actifs contre la plupart des pathogènes en aquaculture (Defer *et al.*, 2013 ; Desriac *et al.*, 2020, Offret *et al.*, 2021). Des effets bénéfiques ont été montrés sur des bivalves et des gastéropodes (Offret *et al.*, 2019b) soumis à un stress infectieux. Le projet FEAMP PAQMAN a pour objectifs de prévenir et de maîtriser les épisodes infectieux en aquaculture marine en utilisant les souches de *Pseudoalteromonas* productrices d'altérines. Ainsi des analyses *in silico* ont été menées : recherche de facteurs de virulence, de gènes de résistance aux antibiotiques, îlots de pathogénicité. L'activité antimicrobienne des altérines produites et leur profil de production ont également été caractérisés. Ces travaux ont permis de déterminer les meilleurs candidats probiotiques pour des essais *in vivo*. Ces travaux sont financés par le Fonds Européen pour les Affaires Maritimes et la Pêche dans le cadre de la mesure 47 « innovation en aquaculture (projet PAQMAN n°PFEA470019FA1000012).

Mots-Clés : activité antimicrobienne, altérines, analyse de génomes, *Pseudoalteromonas*

Références :

Cuny, Hélène & Offret, Clément & Boukerb, Amine M & Parizadeh, Leila & Lesouhaitier, Olivier & Chevalier, Patrick & Jégou, Camille & Bazire, Alexis & Brillet, Benjamin & Fleury, Yannick. (2021). International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology. 71 (11). 10.1099/ijsem.0.005070.

Defer, Diane & Desriac, Florie & Henry, Joël & Bourgougnon, Nathalie & Baudy-Floc'h, Michèle & Brillet, Benjamin & Chevalier, Patrick & Fleury, Yannick. (2013). Fish & shellfish immunology. 34 (6) 1439-1447. 10.1016/j.fsi.2013.03.357.

Desriac, Florie & Harras, Abderrafek & Simon, Matthieu & Bondon, Arnaud & Brillet, Benjamin & Chevalier, Patrick & Pugnère, Martine & Got, Patrice & Destoumieux-Garzón, Delphine & Fleury, Yannick. (2020). Marine Drugs. 18 (12). 630. 10.3390/md18120630.

Offret, Clément & Rochard, Vincent & Laguerre, Hélène & Mounier, Jerome & Huchette, Sylvain & Brillet, Benjamin & Chevalier, Patrick & Fleury, Yannick. (2019). Probiotics and Antimicrobial Proteins. 11 239-247. 10.1007/s12602-018-9389-8.

Offret, Clément & Cuny, Hélène & Bodet, Pierre-Edouard & Desriac, Florie & Jégou, Camille & Bazire, Alexis & Chevrot, Romain & Thiéry, Valérie & Brillet, Benjamin & Fleury, Yannick. (2021). International Journal of Antimicrobial Agents. 59 (3). 10.1016/j.ijantimicag.2021.106514.

*Correspondance : garance.leroy@univ-brest.fr

Anti-Resistance Molecules for ONE health therapY

Alexandre Mahé¹, Delphine Coupri¹, Nicolas Verneuil¹, Céline Zatylny-Gaudin², Aurélie Budin-Verneuil^{1*}

¹CBSA-Communication Bactérienne et Stratégies Anti-infectieuses UR4312, UNICAEN-Univ Rouen, 14000 Caen, France

²BOREA-Biologie des Organismes et Ecosystèmes Aquatiques UMR 8067, MNHN-UNICAEN-CNRS-Sorbonne Université-IRD-Université des Antilles, 14000 Caen, France

The ARMONY project addresses the serious issue of antimicrobial resistance which affects both the medical field and the animal husbandry including aquaculture. The emergence of multidrug-resistant bacteria indeed constitutes one of the main threats to human and animal health, hence the urgent implementation by the World Health Organization of action plans aimed at developing new fighting strategies. In this context and in connection with the multisectoral “One Health” concept, our goal is to identify antimicrobial peptides (AMPs) capable of both improving the health safety of aquaculture (oysters, clams) but also to test these molecules on main multidrug-resistant human pathogens. A screening of a panel of molecules highlighted two broad-spectrum AMPs effective against multidrug-resistant Gram- and Gram+ human pathogens. Moreover, our preliminary results suggest that one of them even re-sensitizes colistin resistant *E. cloacae* to this last line therapeutic antibiotic. Finally, this AMP has no toxicity in an animal model and significantly improves survival of *Galleria mellonella* infected with *S. aureus* MRSA. In conclusion, this AMP has interesting properties and could therefore constitute a promising therapeutic drug for human and animal infections.

Mots-Clés : antimicrobial peptides, antimicrobial resistance, anti-virulence, one health

*Correspondance : aurelie.verneuil@unicaen.fr

In vitro* activity of 4 novel antimicrobial peptides derived from peptide A1 of *Staphylococcus aureus

Julie MOREAUX¹, Valérie BORDEAU¹, François GUERIN², Vincent CATTOIR^{2*}

¹*Bacterial RNAs and Medecine, Inserm U1230, 35000 Rennes, France*

²*CHU de Rennes, 35000 Rennes, France*

Antimicrobial peptides have an important place in the fight against antibiotic resistance, which has dramatically increased. Four new peptides (named Pep15, Pep16, Pep18 and Pep19) derived from peptide A1 of *Staphylococcus aureus*¹, have been recently discovered. In this study, the *in vitro* activity of these pseudopeptides was tested against a large panel of human clinical isolates by determining determined MIC and MBC values using the reference method². More than 400 different isolates (Gram+ and Gram-) were included. The activity was higher against Gram-positive bacteria (MIC₅₀ = 8-64 mg/L, MIC₉₀ = 64->128 mg/L, MBC₅₀ = 16-128 mg/L, MBC₉₀ = 128- >128 mg/L) with significant differences between species. With regard to Gram-negative bacteria, the overall activity was lower (MIC₅₀ = 16- >128 mg/L, MIC₉₀ = 32 - >128 mg/L, MBC₅₀ = 64- >128 mg/L, MBC₉₀ = 128- >128 mg/L). In conclusion, these pseudopeptides have promising *in vitro* activity against human Gram-positive pathogens such as *Staphylococcus* and *Listeria*. The study of potential synergies between pseudopeptides and existing antibiotics is also in progress.

Mots-Clés : antimicrobial peptides, AMP, *in vitro* activity, MIC, MBC

Références :

1. Nicolas I, Bordeau V, Bondon A, Baudy-Floc'h M, Felden B. 2019. Novel antibiotics effective against gram-positive and -negative multi-resistant bacteria with limited resistance. PLoS Biol.
2. Wiegand I, Hilpert K, Hancock Robert E. W. 2008. Agar and broth dilution methods to determine the minimal inhibitory concentration (MIC) of antimicrobial substances. Nat Protoc.

***Correspondance** : Vincent.CATTOIR@chu-rennes.fr

Development of new antimicrobial cyclopeptides against persister bacteria in chronic infections.

Irène Nicolas¹, Elisabete Moura¹, Pierre Rocheteau^{1*}

¹Olgram, 2t rue de la fontaine 56580 Bréhan, France

Persisters are "dormant" bacteria at the root of the chronicity of infections and often responsible for the failure of antibiotic treatments and the relapse of the patients. Persisters are slow-growing or growth-arrested bacterial cells with tolerant to antibiotics, (1,2) and currently, very few treatments are available against those specific bacteria that play a critical role in relapse (3,4).

Olgram is developing rationally designed molecules to directly tackle persistent bacteria implicated in chronic infections, more specifically airway infections in cystic fibrosis patients. We are now modifying the lead candidate from a family of anti-infective cyclic heptapeptide active against multidrug-resistant (MDR) gram-positive and -negative bacterial pathogens (5). In order to find the best molecule to cure patients, the lead optimization is based on an in house original screening platform, so far the only one able to screen persistent bacteria. We will present here: i) the development strategy of this anti-persister screening platform and ii) the lead optimization in progress to have a new therapeutic solution against chronic infectious pathogens.

Mots-Clés : persister bacteria, antimicrobial peptide, chronic infection, anti-persister screening

Références :

- (1) Lewis, K. Persister Cells. *Annu. Rev. Microbiol.* **2010**, *64* (1), 357–372.
- (2) Conlon, B. P.; Nakayasu, E. S.; Fleck, L. E. et al., K. Activated ClpP Kills Persisters and Eradicates a Chronic Biofilm Infection. *Nature* **2013**, *503* (7476), 365–370.
- (3) Balaban, N. Q.; Helaine, S.; Lewis, K. et al.. Definitions and Guidelines for Research on Antibiotic Persistence. *Nat. Rev. Microbiol.* **2019**, *17* (7), 441–448.
- (4) Gollan, B.; Grabe, G.; Michaux, C.; Helaine, S. Bacterial Persisters and Infection: Past, Present, and Progressing. *Annu. Rev. Microbiol.* **2019**, *73* (1), 359–385.
- (5) Nicolas, I.; Bordeau, V.; Bondon, A.; Baudy-Floc'h, M.; Felden, B. Novel Antibiotics Effective against Gram-Positive and -Negative Multi-Resistant Bacteria with Limited Resistance. *PLOS Biol.* **2019**, *17* (7), 1–23.

*Correspondance : pierre.rocheteau@olgram.com

Understanding AMP resistance mechanisms using fluorescence polarization

Ali Tahrioui^{1,2*}, Pierre Cornelis^{1,2}, Sylvie Chevalier^{1,2}, Olivier Lesouhaitier^{1,2}

¹Unité de Recherche Communication Bactérienne et Stratégies Anti-Infectieuses, CBSA UR4312, Université de Rouen Normandie, Normandie Université, 27000 Évreux, France

²SéSAD, Fédération de Recherche "Sécurité Sanitaire, Bien Être, Aliment Durable", Université de Rouen Normandie, Normandie Université, 27000 Évreux, France

Antimicrobial peptides (AMPs) are considered as potential novel antimicrobial drugs. Recently, AMPs have emerged as alternatives to conventional antibiotics in the treatment of biofilm-associated infection. However, bacteria deploy several strategies to resist to various AMPs that include proteolytic degradation by extracellular proteases, sequestration by extracellular proteins or extracellular matrix, efflux pumps, surface modification, and cytoplasmic membrane alteration. Because the cytoplasmic membrane is one of the major targets of AMPs, it is crucial to understand how AMPs can modify membrane fluidity. The effect of AMPs on membrane fluidity can be assessed using various fluorogenic membrane probes and fluorescence polarization measurements. In particular, Laurdan is a fluorescent membrane probe used for measuring membrane fluidity. Laurdan intercalates into the membrane bilayer and displays an emission wavelength shift depending on the amount of water molecules in the membrane. Laurdan generalized polarization (GP) can therefore be used as a reporter for head group density and fatty acyl spreading. Laurdan fluorescence can be measured in a fluorescence microplate reader and allows both endpoint and kinetic measurements. For instance, laurdan GP showed that AMPs derived from thrombocidin (TC19 and TC84) and the synthetic cyclic hexapeptide cWFW (cyclo(RRRWFW)) induce decreased membrane fluidity in *Bacillus subtilis*. Together, here we will show how laurdan-based fluorescence polarization constitute a very useful assay to assess changes in the overall membrane fluidity and to understand the key role of cytoplasmic membrane during resistance emergence in bacteria under AMPs exposure.

*Correspondence: ali.tahrioui@univ-rouen.fr

Bactericidal effects of LL-37 combined to Nanoparticles on *Pseudomonas aeruginosa* and potential therapeutic application to cystic fibrosis.

Zhengzhong XU¹, Albane JOUAULT^{2,3}, Malgorzata KRZYZOWSKA⁴, Lhousseine TOUQUI^{2,3*}

¹Jiangsu Key Laboratory of Zoonosis, Yangzhou University, Yangzhou, China

²Centre de Recherche Saint-Antoine, Inserm, Sorbonne Université, Paris, France

³Institut Pasteur, Mucoviscidose et Bronchopathies Chroniques, Département Santé Globale, 75012 Paris, France

⁴Military Institute of Hygiene and Epidemiology, 01-163 Warsaw, Poland

In patients with cystic fibrosis (CF) viscous mucus provides an appropriate niche for airways infection by pathogens such as *Pseudomonas aeruginosa* (PA). The use of AMPs is challenging due to their possible degradation by proteases and the presence of mucus that prevent the access of AMPs to bacteria. Here, we showed that Trypsin and Cathepsin S, proteases from CF airways, were able to degrade LL-37 reducing its bactericidal activity against PA. This activity was also reduced in the presence of mucus. This led us to examine whether silver nanoparticles (AgNPs) protect LL-37 from degradation by proteases and help this AMP to traverse mucus. Our results showed: i) the antibacterial activity of AgNPs-LL-37 complex on PA laboratory and CF strains was higher than that of LL-37 alone, suggesting a potentiating effect of AgNPs of the bactericidal effects of LL-37; ii) AgNPs efficiently protected LL-37 against the degradation by Trypsin and Cathepsin S and iii) AgNPs restore the bactericidal activity of LL-37 in the presence of mucus, suggesting that AgNPs may help LL-37 to traverse mucus barrier. Studies are in progress to examine the ability of AgNPs to potentiate the anti-biofilm action of LL-37 in PA biofilm cultures. Thus, Nanoparticles may represent efficient tools to protect AMPs from degradation and to help them to overcome mucus barrier.

*Correspondance : lhousseine.touqui@pasteur.fr

LISTE DES PARTICIPANTS

AMICHE Mohamed

Paris

mohamed.amiche@upmc.fr

ARNAUD Bastien

Nantes

bastien.arnaud@inovarion.com

AUBRY Céline

Gif sur Yvette

celine.aubry@cea.fr

BAZIRE Alexis

Lorient

alexis.bazire@univ-ubs.fr

BERJEAUD Jean-Marc

Poitiers

jean-marc.berjeaud@univ-poitiers.fr

BORDEAU Valérie

Rennes

valerie.bordeau@univ-rennes1.fr

BOUGHANMI Yasmine

Marseille

Yasmine.boughanmi@etu.univ-amu.fr

BRAQUART-VARNIER Christine

Poitiers

christine.braquart@univ-poitiers.fr

BUDIN-VERNEUIL Aurélie

Caen

aurelie.verneuil@unicaen.fr

BULET Philippe

Archamps

philippe.bulet@univ-grenoble-alpes.fr

CATTOIR Vincent

Rennes

vincent.cattoir@chu-rennes.fr

CREPIN Alexandre

Poitiers

alexandre.crepin@univ-poitiers.fr

D'AMELIO Nicola

Amiens

nicola.damelio@u-picardie.fr

DA SILVA Pedro

Lyon

pedro.da-silva@insa-lyon.fr

DASSONVILLE-KLIMPT Alexandra

Amiens

alexandra.dassonville@u-picardie.fr

DESRIAC Florie

Caen

florie.desriac@unicaen.fr

DUFOUR Alain

Lorient

alain.dufour@univ-ubs.fr

EL HADJI Cissé

Orléans

el-hadji.cisse@cnsr-orleans.fr

EL-KIRAT-CHATEL Sofiane

Villers-lès-Nancy

elkirat1@univ-lorraine.fr

FERMON Laurence

Rennes

laurence.fermon@univ-rennes1.fr

FLEURY Yannick

Quimper

yannick.fleury@univ-brest.fr

GABANT Christine

Orléans

christine.gabant@cnsr.fr

GADAIS Charène

Rennes

charlene.gadais@univ-rennes1.fr

GEBUS Adrien

Strasbourg

adrien.gebus@etu.unistra.fr

GRANGER Pascal

Lilles

pascal.granger@univ-lille.fr

GUITARD Juliette

Paris

juliette.guitard@aphp.fr

GUYOT Nicolas

Nouzilly

nicolas.guyot@inrae.fr

HAAS Drago

La Rochelle

d.haas@ast-innovations.com

HELLOIN Emmanuelle

Nouzilly

emmanuelle.helloin@inrae.fr

HERVE Virginie

Tours

virginie.herve@univ-tours.fr

HUMBLLOT Vincent

Besançon

vincent.humblot@femto-st.fr

JOUAULT Albane

Paris

albane.jouault@inserm.fr

JOUVENSAL Laurence

Orléans

jouvensa@cnsr-orleans.fr

KAROYAN Philippe

Paris

philippe.karoyan@sorbonne-universite.fr

KHARRAT Ons

Orléans

ons.kharrat@cnsr-orleans.fr

LACOMBE Claire

Paris

claire.lacombe@sorbonne-universite.fr

LAFOND Michael

Marseille

mickael.lafond@univ-amu.fr

LANDON Céline

Orléans

celine.landon@cnsr-orleans.fr

LANNELUC Isabelle

La Rochelle

ilannelu@univ-lr.fr

LEBAUDY Éloïse

Strasbourg

eloise.lebaudy@etu.unistra.fr

LEGLAND Patricia

Orléans

patricia.legland@cnsr.fr

LESOUHAITIER Olivier

Evreux

olivier.lesouhait@univ-rouen.fr

MABROUK Kamel

Marseille

kamel.mabrouk@univ-amu.fr

MAHÉ Alexandre

Caen

alexandre.mahe16@gmail.com

MASCARY Jean-Baptiste

Rennes

jean-baptiste.mascary@univ-rennes1.fr

MOREAUX Julie

Rennes

julie.moreaux@univ-rennes1.fr

MURA Catherine

Orléans

catherine.mura@cnsr-orleans.fr

NICOLAS Irène

Bréhan

irene.nicolas5@gmail.com

OFFRET Clément

Quimper

clement.offret@univ-brest.fr**PALOS LADEIRO Melissa**

Reims

melissa.palos@univ-reims.fr**PAQUET Françoise**

Orléans

francoise.paquet@cnrs-orleans.fr**PASSERINI Delphine**

Nantes

delphine.passerini@ifremer.fr**PERRIER Fabien**

Caen

fabienP619@outlook.fr**PERRIER Josette**

Marseille

josette.perrier@univ-amu.fr**ROBLIN Clarisse**

Marseille

clarisse.roblin@gmail.com**RODON FORES Jennifer**

Strasbourg

rodonfores@unistra.fr**ROUPIE Charlotte**

La Rochelle

charlotteroupie@gmail.com**SABLÉ Sophie**

La Rochelle

sophie.sable@univ-lr.fr**SAUVAGE Thomas**

Nantes

tomsauv@gmail.com**TAHOURIOUI Ali**

Evreux

ali.tahrioui@univ-rouen.fr**TASIEMSKI Aurélie**

Lille

aurelie.tasiemski@univ-lille.fr**TERRASSON Hugo**

Villeurbanne

hugo.terrasson@insa-lyon.fr**TOUQUI Lhousseine**

Paris

lousseine.touqui@pasteur.fr**VERDON Julien**

Poitiers

julien.verdon@univ-poitiers.fr**VERNEUIL Nicolas**

Caen

nicolas.verneuil@unicaen.fr**VINCENT-MONEGAT Carole**

Lyon

Carole.Monegat@insa-lyon.fr**WARSCHAWSKI Dror**

Paris

dror.warschawski@sorbonne-universite.fr**WICHLACZ Céline**

Lille

celine.wichlacz@univ-lille.fr**ZAATOUF Laila**

Paris

laila.zaatouf@sorbonne-universite.fr**ZIRAH Séverine**

Paris

severine.zirah@mnhn.fr

2014



2014

GDR 3625 MuFoPAM/Réseau MUFOFAM
« Multifonction des Peptides Antimicrobiens »
9^{èmes} Journées Annuelles

GDR 3625 MuFoPAM
« Multifonction des Peptides Antimicrobiens »
8^{èmes} Journées Annuelles

Premières journées du GDR MuFoPAM
« Multifonction des Peptides antimicrobiens »
Club Belambra « Le Normant », Avenue d'Orléans, 91410 Deudain
27-28 novembre 2014

GDR 3625 MuFoPAM
« Multifonction des Peptides Antimicrobiens »
5^{èmes} Journées Annuelles

GDR 3625 MuFoPAM
« Multifonction des Peptides Antimicrobiens »
6^{èmes} Journées Annuelles

GDR 3625 MuFoPAM
« Multifonction des Peptides Antimicrobiens »
7^{èmes} Journées Annuelles

GDR 3625 MuFoPAM
« Multifonction des Peptides Antimicrobiens »
8^{èmes} Journées Annuelles

GDR 3625 MuFoPAM
« Multifonction des Peptides Antimicrobiens »
9^{èmes} Journées Annuelles

PROGRAMME
JEUDI 22 OCTOBRE 2020

13h00 : ouverture E-ROOM
13h30-14h00 : Introduction des 5 journées Céline LANDON (Orléans)
14h-15h : Conférences

MuFoPAM GDR 3625
« Multifonction des Peptides Antimicrobiens »
Journées annuelles
23 - 24 octobre 2017
PESSAC
IECB
Institut Européen de Chimie et Biologie
CIRCEP ESCAPE
cbmn

MuFoPAM GDR 3625
« Multifonction des Peptides Antimicrobiens »
Journées annuelles
13-12 Octobre 2018
PARIS
MNHV - LRS
Campus Pierre et Marie Curie
4 place Jussieu
75005 Paris

MuFoPAM GDR 3625
« Multifonction des Peptides Antimicrobiens »
Journées annuelles
6 - 7 octobre 2016
TOURS
Lycée Descartes
Amphithéâtre Sédar Senghor
18b, rue de la Préfecture
37000 Tours
Organisé avec le soutien du centre INRA Val de Loire

MuFoPAM GDR 3625
« Multifonction des Peptides Antimicrobiens »
Journées annuelles
17-18 Octobre 2019
BESANCON
Eva
20
21

MuFoPAM GDR 3625
« Multifonction des Peptides Antimicrobiens »
Journées annuelles
26 - 27 octobre 2015, Orléans
Hôtel Dupanloup
Centre International Universitaire pour la Recherche
45000 Orléans

2022



2022