

#### Diapositive 1

Dans ce sujet, vous verrez comment une protéine de phage, appelée endolysine, a été transformée en un traitement antimicrobien capable de tuer des bactéries multi-résistantes. Tout d'abord, on soulignera pourquoi nous avons besoin de nouveaux traitements antimicrobiens. Ensuite, je vais expliquer comment nous pouvons concevoir des endolysines pour devenir un traitement antimicrobien.

#### Diapositive 2

Un rapport très récent de la Banque mondiale a tenté de quantifier ce que le taux actuel de développement de résistances aux antimicrobiens pourrait signifier pour le monde. Au total, cela pourrait amener à une perte mondiale de 100 trillions de dollars d'ici 2050 si aucune action sérieuse n'est entreprise. Une vision novatrice est donc nécessaire pour développer de nouveaux antibiotiques afin de lutter contre ces bactéries multi-résistantes. Le développement d'enzymotiques ou d'antibiotiques à base d'enzyme pourraient fournir la solution.

#### Diapositive 3

Comme vu dans la section 1.1, le virus bactérien ou bactériophage infectent les bactéries pour se reproduire. Après la fixation sur un hôte bactérien viable, le phage va injecter son matériel génétique qui transformera la bactérie en une véritable machine produisant du virus. Cependant, au stade final de la réplication, la bactérie est complètement remplie de nouveaux phages mais ceux-ci ne peuvent pas sortir de la bactérie car la paroi bactérienne est encore intacte. Par conséquent, d'autres protéines du phage, appelées holines et endolysines, entrent en jeu. Les endolysines digèrent la couche de peptidoglycane de la bactérie, ce qui entraîne une lyse de l'hôte et la libération de la descendance virale.

#### Diapositive 4

Ainsi, à la fin, les nouveaux phages sont produits mais ne peuvent pas s'échapper de l'intérieur de la bactérie. En outre, les endolysines sont déjà produites mais elles ne peuvent pas atteindre le peptidoglycane car la membrane cytoplasmique lui bloque l'accès. Par conséquent, une protéine du phage appelée holine réalise des trous dans la membrane cytoplasmique via lesquels les endolysines peuvent passer. Une fois la couche de peptidoglycane atteinte, les endolysines commencent à la dégrader jusqu'à ce qu'elle soit tellement affaiblie que la cellule se lyse spontanément et libère ainsi les nouveaux phages. En général, les endolysines se composent de 2 domaines : un domaine de liaison cellule-parois ou CBD (*cell-wall binding domain*), qui reconnaît une cible spécifique dans le peptidoglycane et est représenté par une main. Si le CBD n'est pas lié, la main sera ouverte. Lorsque la cible spécifique est reconnue par le CBD, elle se liera à elle et la main sera fermée. Le second domaine est le domaine actif enzymatique ou EAD qui va dégrader le peptidoglycane et est représenté par la figure "pac-man". Dans la dernière figure, vous pouvez observer les différentes activités enzymatiques des endolysines.

#### Diapositive 5

Comme indiqué précédemment, les bactéries deviennent de plus en plus résistantes aux antibiotiques. Pour cette raison, de nouveaux traitements antibactériens sont recherchés et l'utilisation d'endolysines est très prometteuse. Au début du siècle, des scientifiques ont découvert que les endolysines ajoutées de façon exogène pouvaient lyser les bactéries Gram-positives aussi facilement que si elles agissaient de l'intérieur. En outre, le principe reste le même, si la couche de peptidoglycane est suffisamment dégradée, la bactérie se lysera. Plusieurs architectures différentes ont été observées dans la nature: plusieurs EAD ou CBD peuvent être présents, les EAD ou les CBD peuvent être orientés différemment.

#### Diapositive 6

Malheureusement, les endolysines indigènes n'ont qu'une activité antibactérienne limitée contre les bactéries Gram-négatives lorsqu'elles sont ajoutées de façon exogène. Ceci est dû à la membrane externe qui constitue un obstacle imperméable à presque tout. Récemment, cette barrière a été attaquée en modifiant les endolysines par ingénierie des protéines pour combiner le mécanisme d'absorption auto-favorisé des peptides de perméabilisation de la membrane externe et l'activité des endolysines de dégradation des peptidoglycanes afin d'élargir l'utilisation des endolysines. Ces endolysines développées ont été inventées par Artilysins. Dans ce film, vous pouvez voir un Artilysin au travail contre une souche de *Pseudomonas* multi-résistante. Le peptide perméabilisant de la membrane externe interférera avec les forces de stabilisation de la membrane externe et formera un coin à travers la membrane externe. Pour ce faire, il tirera le long de la partie de l'endolysine, composé d'une EAD et d'un CBD, à travers la membrane externe. En atteignant la mince couche de peptidoglycane de bactéries Gram négatives, la partie endolysine va commencer à la dégrader, ce qui entraîne la lyse et la mort de la bactérie.

#### Diapositive 7

L'endolysine s'est avérée avoir des avantages supplémentaires: le plus important est que les bactéries ne peuvent pas devenir résistantes à elles-mêmes; Les endolysines fonctionnent très rapidement, en quelques secondes et elles ne tuent que les mauvais microbes, laissant à leur avantage une fois indemne. Etant donné que les endolysines sont composées de plusieurs modules, nous échangeons ces modules et réalisons de l'ingénierie des endolysines pour obtenir un spectre différent, une thermostabilité accrue ou une plus longue durée de conservation.