

Découverte de cible antibactérienne à partir de phage

Diapositive 1

Bienvenue à la conférence en ligne sur la découverte de cible antibactérienne à partir de phage. La première partie de la conférence expliquera la raison pour laquelle il existe un réel besoin de découvrir de nouvelles cibles antibactériennes et définira ce qu'est une cible antibactérienne. Dans la deuxième partie, la recherche de cibles antibactériennes en utilisant les phages comme source d'inspiration, sera expliquée étape par étape. Enfin, un aperçu sera donné sur la façon dont les cibles antibactériennes sont utilisées pour fabriquer de nouveaux antibiotiques afin de lutter contre les infections bactériennes.

Diapositive 2

Dernièrement, les médias se sont concentrés sur le problème de la résistance croissante des bactéries pathogènes contre les antibiotiques actuellement disponibles. Cela signifie que les bactéries ne répondent plus aux antibiotiques actuellement disponibles et que les infections bactériennes deviennent beaucoup plus difficiles à traiter. Par conséquent, l'organisation mondiale de la santé a récemment appelé à l'aide en publiant une liste des bactéries pour lesquelles de nouveaux antibiotiques sont nécessaires. Entre autres, *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter baumannii* sont considérés comme des bactéries résistantes très critiques, pour lesquelles de nouveaux antibiotiques sont essentiels. L'objectif de cette liste est d'encourager les chercheurs à se concentrer sur le développement de nouveaux antibiotiques, qui inhibent spécifiquement les cibles antibactériennes. Ces cibles sont définies comme des protéines ou des procédés qui sont essentiels à la survie bactérienne, comme par exemple la synthèse de la paroi cellulaire ou les ribosomes. En outre, ces cibles doivent être sensibles à l'inhibition, ce qui signifie que des antibiotiques qui inhibent la protéine ou certains procédés et inhibent ainsi la croissance bactérienne peuvent être trouvés. Une façon de trouver de nouvelles cibles antibactériennes est d'utiliser les phages comme source d'inspiration. Comme ce sont des ennemis naturels des bactéries, ils expriment, durant l'infection, plusieurs protéines toxiques qui inhibent les processus bactériens essentiels et convertissent l'hôte en une machine produisant du phage. Ces protéines toxiques de phage ont été sélectionnées par évolution et sont donc très efficaces. L'identification des cibles bactériennes des protéines toxiques de phages et l'imitation de leurs protéines à effet toxique peuvent conduire au développement de nouveaux antibiotiques.

Slide 3

La découverte des cibles antibactériennes inhibées par les protéines toxiques de phage peut être subdivisée en trois étapes : premièrement, les phages spécifiques de bactéries sont séquencés et leurs gènes sont prédits. Ensuite, les gènes qui exercent un effet antimicrobien sont identifiés et enfin les cibles bactériennes des gènes toxiques du phage sont localisées. Ces trois étapes vont être maintenant discutées en détail.

Diapositive 4

Tout d'abord, il faut sélectionner un phage qui infecte la bactérie contre laquelle vous souhaitez développer un nouvel antibiotique, par exemple un phage qui infecte spécifiquement *Pseudomonas aeruginosa*. Après avoir recueilli un certain nombre de phages de ce type, les génomes des phages sont extraits et la séquence nucléotidique du génome du phage est déterminée. Dans les étapes finales, des programmes informatiques sont utilisés pour prédire les gènes du génome codant les protéines du phage.

Diapositive 5

La deuxième étape consiste à savoir lequel des gènes prédits code des protéines toxiques pour la bactérie d'intérêt. Premièrement, un plasmide d'expression est construit pour chacun des gènes prédits individuellement. Il s'agit d'une petite molécule d'ADN circulaire qui contient un seul gène du

phage. Deuxièmement, les plasmides sont introduits dans le cytoplasme de la bactérie cible par transformation. Troisièmement, l'expression des gènes du phage est activée, entraînant la production des protéines du phage dans le cytoplasme bactérien. Pour identifier les protéines toxiques pour les bactéries, la croissance des bactéries contenant une certaine protéine de phage dans son cytoplasme est interprétée.

Diapositive 6

L'interprétation de la croissance bactérienne en vue d'identifier les protéines de phage toxiques peut se faire comme suit. Pour chaque gène du phage, la croissance est interprétée pour les bactéries qui n'expriment pas la protéine et les bactéries qui expriment la protéine. On s'attend à ce que les bactéries qui contiennent uniquement le plasmide, mais ne produisent pas les protéines de phage, se développent normalement. D'autre part, deux options sont possibles pour les bactéries qui produisent les protéines de phage. Si les bactéries peuvent encore pousser normalement, les protéines produites ne sont pas toxiques. Alternativement, lorsque les protéines de phage sont toxiques, les bactéries ne pourront pas se développer. En réalisant cette expérience de croissance pour chaque gène du phage identifié, les gènes codant des protéines toxiques peuvent être sélectionnés.

Diapositive 7

Comment pouvons-nous maintenant déterminer les protéines cibles bactériennes qui sont inhibées par les protéines de phage toxiques identifiées? Une façon de faire est avec une expérience « pull-down ». Dans cette expérience, une certaine protéine toxique de phage est utilisée comme appât afin de capturer sa protéine cible bactérienne. Premièrement, la protéine de phage est immobilisée à l'intérieur d'une colonne. Ensuite, un mélange de toutes les protéines produites par la bactérie d'intérêt est collecté et autorisé à pénétrer dans la colonne à partir du dessus. Au fur et à mesure que les protéines bactériennes se déplacent dans la colonne, elles peuvent interagir avec les protéines de phage immobilisées. Les protéines bactériennes qui sont ciblées par les protéines de phage seront conservées dans la colonne, tandis que les protéines non ciblées ne seront pas retenues par les protéines de phage et passent à travers la colonne. Enfin, les protéines bactériennes retenues peuvent être éluées et identifiées. Alternativement, d'autres techniques peuvent également être utilisées pour identifier des cibles antibactériennes après l'identification d'une protéine toxique de phage. La technique d'interaction protéine-protéine "yeast two-hybrid" qui est utilisée à cette fin dans l'article de Wagemans et al. en est un exemple.

Diapositive 8

Comment utiliser ces cibles antibactériennes de protéines toxiques de phage pour développer un nouvel antibiotique? Cela implique l'identification d'une petite molécule qui imite l'action de la protéine toxique de phage, ce qui signifie que la petite molécule exerce un effet inhibiteur similaire sur la cible bactérienne. Les protéines de phage elles-mêmes ne peuvent pas être utilisées comme antibiotiques, car les protéines sont rapidement décomposées pendant la digestion dans le tractus intestinal et elles ne peuvent pas pénétrer dans les cellules bactériennes. Les petites molécules, d'autre part, ne peuvent être digérées et sont suffisamment petites pour pénétrer et exercer leurs effets toxiques.

Diapositive 9

Si vous souhaitez en savoir plus sur la résistance aux antibiotiques et l'utilisation de protéines toxiques de phage pour identifier de nouvelles cibles antibactériennes, la littérature suivante est recommandée. Merci de suivre cette conférence en ligne.