

## Les peptides antimicrobiens de la drosophile

Philippe Bulet

En réponse à une infection expérimentale, le corps gras des insectes (équivalent fonctionnel du foie des mammifères) synthétise plusieurs peptides antimicrobiens. Chez la drosophile, on a caractérisé sept peptides antimicrobiens qui sont sécrétés dans le sang à des concentrations variant de 1  $\mu$ M à 100  $\mu$ M. Ces molécules appartiennent aux quatre familles de peptides antimicrobiens d'insectes : (1) les peptides constitués d'hélices  $\alpha$  ; (2) les peptides à ponts disulfure ; (3) les peptides riches en résidus proline ; et (4) les peptides riches en résidus glycine. La réponse immunitaire humorale des insectes présente des similitudes avec la réponse inflammatoire de phase aiguë des mammifères et avec la réponse immunitaire des plantes. En effet, les défensines d'insectes présentent des similitudes structurales avec les défensines des mammifères ainsi qu'avec des peptides antifongiques de plantes.

**A**u cours de leur développement, les insectes sont confrontés à de nombreux risques d'infection, leur survie est par conséquent liée à des mécanismes de défense particulièrement efficaces leur conférant une protection contre les agressions microbiennes. La première ligne de défense utilisée contre des agents infectieux est la cuticule. Cependant, lorsque cette barrière est rompue, un réseau complexe de réactions humorales et cellulaires est mis en place pour éliminer les agents infectieux (pour revues voir [1-3]). La réponse cellulaire inclut la phagocytose et l'encapsulation des corps étrangers par les cellules sanguines (hémocytes) (pour revue voir [4]). Au niveau du site d'infection, la première réaction de

défense humorale implique l'activation de cascades protéolytiques qui conduisent à la mélanisation et à la coagulation limitant la propagation de l'infection. Un second processus inductible se met en place qui aboutit à la synthèse de peptides antimicrobiens, par le corps gras et certains hémocytes (*m/s* 1992, n° 5, p. 432). Une fois synthétisés, ces composés sont sécrétés dans l'hémolymphe de l'insecte où ils peuvent agir sur une large gamme de micro-organismes. C'est au début des années 1980 que l'équipe de Hans Boman (Stockholm, Suède) a caractérisé les premiers peptides antibactériens induits chez un insecte (cécropine et attacine) [5]. Depuis lors, plus de 170 peptides antimicrobiens d'invertébrés ont été caractérisés. La plupart de ces peptides sont cationiques et

### ADRESSE

P. Bulet : directeur de recherche au Cnrs. Cnrs UPR 9022, Réponse immunitaire et développement des insectes, IBMC, 15, rue Descartes, 67000 Strasbourg, France.

de petite taille (2-30 kDa). Ils présentent un spectre d'activité large contre les bactéries, les champignons filamenteux et les levures. Les peptides antibiotiques des insectes sont classés en quatre familles: (1) les peptides organisés en hélices  $\alpha$  dont le prototype est la cécropine; (2) les peptides possédant un ou plusieurs ponts disulfure, les premiers représentants étant les défensines d'insectes; (3) les peptides riches en résidus proline portant ou non une substitution osidique et enfin (4) une famille de peptides riches en résidus glycine (pour revues voir [6, 7]).

Les peptides antimicrobiens sont détectés dans l'hémolymphe des insectes deux heures après une infection expérimentale. Le nombre de peptides antimicrobiens produits par les insectes varie d'une espèce à l'autre. Par exemple, chez la drosophile sept peptides antimicrobiens, plus des isoformes, ont été caractérisés. Il s'agit des cécropines, de la défensine, de la drosomycine de la drosocine, des metchnikowines, des attacines et de la diptéricine [8]. Chez la drosophile la concentration sanguine en peptides antimicrobiens varie de 2  $\mu\text{M}$  pour la défensine à plus de 100  $\mu\text{M}$  pour la drosomycine (Tableau I). Récemment, les mécanismes moléculaires aboutissant à la synthèse de ces molécules par le corps gras de la drosophile ont été analysés. Deux voies de régulation ont été définies qui seront détaillées dans l'article de Bruno Lemaitre (p. 15 de ce numéro). La structure des sept peptides antimicrobiens de la réponse immunitaire systémique de la drosophile sera décrite en se référant au contexte général des quatre

familles de peptides antimicrobiens d'insectes.

### Les cécropines de drosophile : peptides constitués d'hélices $\alpha$

Les cécropines ont été originellement isolées et caractérisées à partir de pupes diaposantes du papillon *Hyalophora cecropia* [5]. Chez cet insecte, les cécropines représentent le facteur antibactérien majeur produit à la suite d'une infection bactérienne. C'est en utilisant une approche de biologie moléculaire que trois cécropines de drosophile (A, B et C) ont été caractérisées. Une sonde réalisée à partir d'un clone d'ADNc codant pour une cécropine de *Sarcophaga peregrina* (mouche à viande), a permis d'isoler chez la drosophile quatre gènes; deux codent pour le même peptide, la cécropine A. L'expression de ces gènes varie suivant le stade de développement de la drosophile. Par exemple, les deux gènes qui codent pour la cécropine A sont moins actifs chez la pupa que chez les larves et les adultes. Les trois cécropines de drosophile sont constituées de 36 acides aminés, les cécropines B et C diffèrent de la cécropine A respectivement en 5 et 3 positions (figure 1). Les cécropines sont synthétisées sous forme de précurseurs comprenant un peptide signal hydrophobe, une proséquence, suivie du peptide mûr et d'un résidu glycine nécessaire à l'amidation carboxy-terminale. L'expression des gènes des cécropines de drosophile varie suivant le stade de développement, ce qui permet de concevoir des fonc-

tions différentes pour ces molécules. Chez la drosophile adulte, l'induction des gènes des cécropines est particulièrement rapide: les ARN messagers sont décelés une heure après le déclenchement de l'infection et le niveau maximal est atteint 6 heures après.

Actuellement plus de 21 cécropines ont été caractérisées à partir de diptères (*Drosophila melanogaster*, *Sarcophaga peregrina* et *Ceratitis capitata*) et de lépidoptères (*Hyalophora cecropia*, *Antheraea pernyi*, *Manduca sexta* et *Bombyx mori*). Une étude comparative des séquences peptidiques des cécropines de diptères montre que ces molécules forment une famille homogène. La cécropine A de drosophile est identique à la cécropine IA de *Sarcophaga* (aussi dénommée sarcotoxine IA). Les autres cécropines de diptères présentent plus de 70 % d'acides aminés identiques (figure 1). En revanche, les cécropines de lépidoptères forment une famille plus hétérogène. Des études par dichroïsme circulaire et résonance magnétique nucléaire (RMN) montrent que la cécropine A de *Hyalophora* adopte une structure en hélice  $\alpha$  amphipatique-coude-hélice  $\alpha$  hydrophobe (figure 1). Cette structure secondaire serait adoptée au contact des constituants hydrophobes des membranes bactériennes provoquant ainsi leur perméabilisation. Cependant, les modalités précises du mode d'action restent controversées, la perméabilisation membranaire est-elle la conséquence de la formation de pores ou de canaux ou est-elle due à une désorganisation de la membrane par un effet de type détergent (pour revue voir [9])? Les cécropines sont actives

Tableau I  
CARACTÉRISTIQUES DES PEPTIDES ANTIMICROBIENS DE *DROSOPHILA MELANOGASTER*

Nom	Masse moléculaire	Particularités	Activité	Concentration ( $\mu\text{M}$ )
cécropine (3 isoformes)	4 kDa	amidation C-terminale	Anti-Gram -	20
défensine	4 kDa	3 ponts disulfure	Anti-Gram +	< 2
drosomycine	5 kDa	4 ponts disulfure	Antifongique	100
drosocine	2,5 kDa	O-glycosylation	Anti-Gram -	40
metchnikowine (2 isoformes)	3 kDa	-	Anti-Gram + Antifongique	10
diptéricine	9 kDa	-	Anti-Gram -	-
attacine (2 isoformes)	20 kDa	-	Anti-Gram -	-

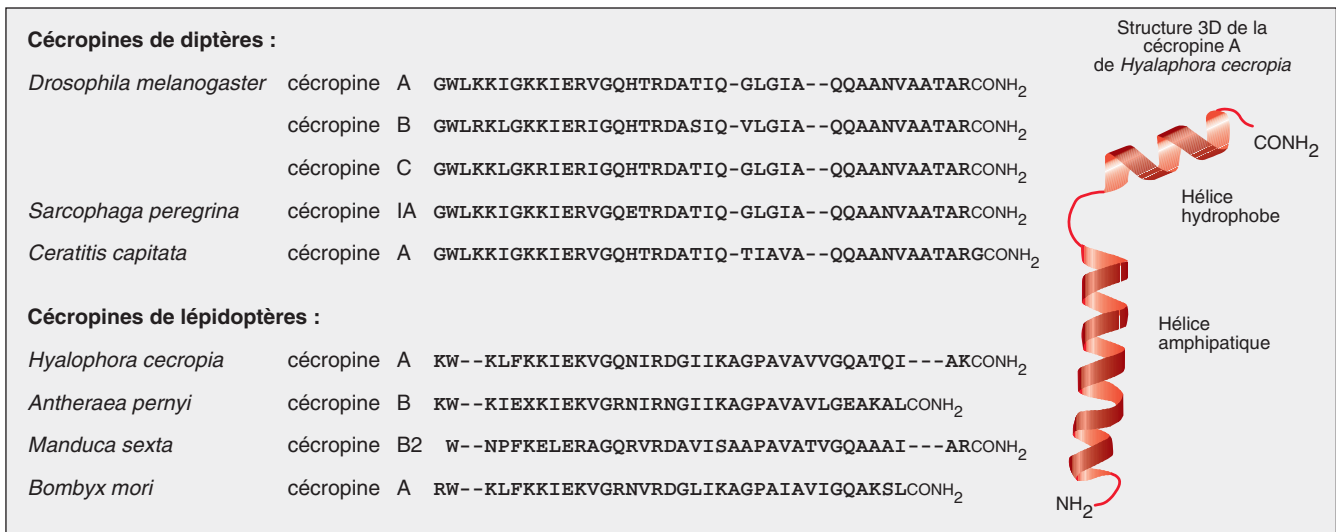


Figure 1. **Les cécropines d'insectes.** Comparaison entre les trois isoformes de cécropines de drosophile et certaines cécropines d'insectes et représentation schématique de la structure tridimensionnelle de la cécropine A de *Hyalophora cecropia*. Code à une lettre des acides aminés : A : Ala ; C : Cys ; D : Asp ; E : Glu ; F : Phe ; G : Gly ; H : His ; I : Ile ; K : Lys ; L : Leu ; M : Met ; N : Asn ; P : Pro ; Q : Gln ; R : Arg ; S : Ser ; T : Thr ; V : Val ; W : Trp ; Y : Tyr.

contre les bactéries à Gram négatif incluant des pathogènes humains comme *Pseudomonas aeruginosa*. Elles présentent une activité modérée envers les bactéries à Gram positif, et envers certaines lignées cellulaires tumorales et sont inactives envers les levures du genre *Candida*.

### La défensine de drosophile et la drosomycine : peptides à ponts disulfure

En réponse à une infection expérimentale, la drosophile synthétise deux peptides antimicrobiens riches en résidus cystéine : un membre de la famille des défensines d'insectes, et une molécule à activité antifongique, la drosomycine [10].

Les défensines d'insectes représentent une famille homogène de peptides cationiques dont la taille varie de 4 à 5 kDa. Les défensines d'insectes (plus de 30 isoformes), possèdent six résidus cystéine engagés dans la formation de trois ponts disulfure. Elles sont retrouvées dans tous les ordres d'insectes étudiés, à l'exception des lépidoptères (pour revue voir [7]). Plusieurs rapports font état de molécules homologues chez le scorpion et la moule. Les deux premiers représentants des défensines d'insectes ont été décou-

verts simultanément chez deux diptères, *Sarcophaga* et *Phormia terranova*. Le terme défensine a été proposé du fait de similitudes de séquence avec les défensines de mammifères originellement découvertes dans les macrophages de lapin et dans les cellules neutrophiles humaines (pour revue voir [11]). Les défensines d'insectes, qui ne présentent pas de cytotoxicité vis-à-vis des cellules eucaryotes, sont comme les défensines de mammifères actives contre les bactéries à Gram positif et à un moindre niveau contre les germes à Gram négatif.

La structure 3D de deux défensines d'insectes a été définie par RMN. Elles sont organisées en une hélice  $\alpha$  centrale amphipatique liée par deux ponts disulfure à un feuillet  $\beta$  carboxy-terminal formé de deux brins antiparallèles torsadés. Cette organisation permet de stabiliser l'hélice  $\alpha$  avec le feuillet  $\beta$ . Le motif particulier qui permet cette stabilisation est appelé  $CS\alpha\beta$  (cysteine stabilized  $\alpha\beta$ ). Ce motif est retrouvé chez certaines toxines de scorpions ainsi que dans les thionines et les défensines de plantes. Le troisième pont disulfure permet de fixer la partie amino-terminale flexible sur le premier brin du feuillet  $\beta$  (figure 2). Cette structure compacte confère aux défensines d'insectes une grande stabilité vis-à-

vis des protéases. Au contraire des défensines d'insectes, les défensines de mammifères sont organisées en un feuillet  $\beta$  à trois brins antiparallèles (pour revue voir [12]). Ainsi, contrairement à ce qui était proposé initialement, les défensines d'insectes ne sont pas les homologues des défensines de mammifères.

Il a été montré que la défensine de *Phormia* perméabilise la membrane de *Micrococcus luteus* par un processus dépendant du potentiel. Cette perméabilisation membranaire crée alors un flux sortant de potassium qui aboutit à une dépolarisation de la membrane plasmique et à une diminution de la teneur intracellulaire en ATP. En moins d'une minute, un arrêt de la respiration est observé aboutissant à la mort des bactéries (pour revue voir [7]). Pour les défensines d'insectes, comme pour les cécropines, la question reste posée de savoir si ces molécules exercent leur activité de perméabilisation de la membrane des bactéries par un effet détergent ou par la formation d'une structure organisée de type pore ou canal (pour revue voir [9]).

Une défensine de *Drosophila melanogaster* a été isolée et son ADNc cloné. Cette défensine (40 acides aminés) présente 80 % d'identité de séquence avec la défensine de *Phormia* et 82 % avec la défensine de *Sarcophaga*

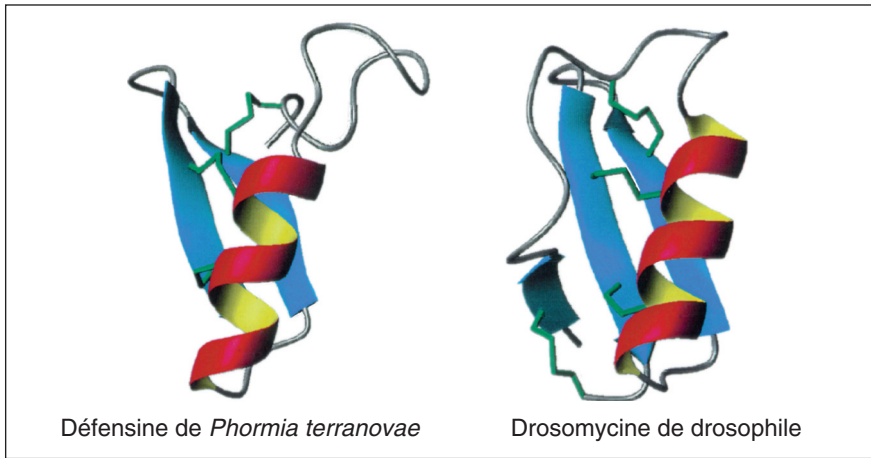


Figure 2. Représentation schématique des structures tridimensionnelles de la défensine A de *Phormia terranovae* et de la drosomyicine de *Drosophila melanogaster*. L'hélice  $\alpha$  est représentée en rouge, les feuillets  $\beta$  en bleu, les ponts disulfures en vert et les zones non structurées en gris.

(figure 3). Le nombre élevé d'acides aminés communs entre ces deux peptides suggère que la défensine de drosophile adopte la même structure 3D que celle de *Phormia*. La défensine de drosophile est synthétisée sous la forme d'un précurseur organisé en un peptide signal de 20 acides aminés, une proséquence de 30 acides aminés suivie par la défensine mûre.

Le second peptide riche en résidus cystéine décrit chez la drosophile, la drosomyicine, est le premier peptide antifongique induit isolé à partir d'un insecte. Elle est active exclusivement contre les champignons, à des concentrations le plus souvent inférieures à  $1 \mu\text{M}$ , en inhibant la germination des spores. La drosomyicine (44 acides aminés), qui possède huit résidus cystéine engagés dans la formation de quatre ponts disulfure, est codée par un gène dépourvu d'introns. Ce gène code pour un précurseur à partir duquel la molécule mûre est produite par excision d'un peptide signal apolaire [10].

L'analyse par RMN de la structure 3D de la drosomyicine a permis de montrer qu'elle adopte une conformation semblable à celle des défensines d'insectes (figure 2) [13]. Cependant, elle s'en distingue par l'existence d'un court feuillet  $\beta$  amino-terminal et d'un pont disulfure supplémentaire qui referme la molécule sur elle-même. Cette structure compacte rend la drosomyicine pratiquement insensible aux

protéases. Outre ces similitudes structurales avec les défensines d'insectes, elle présente des similitudes structurales avec des peptides antifongiques de la réponse immunitaire des plantes, les défensines de plantes. Ces dernières sont des peptides cationiques de 5 kDa comportant huit résidus cystéine engagés dans la formation de quatre ponts disulfure. La drosomyicine présente plus de 34 % d'identité de séquence avec une défensine de plante brassicacée, *Raphanus sativus* (figure 3). Ces similitudes structurales se retrouvent au niveau de la structure 3D de ces deux catégories de peptides antifongiques (pour revue voir [14]). Les fortes similitudes dans les structures primaires et secondaires entre les défensines d'insectes, la drosomyicine et les défensines de plantes, laissent penser que ces anti-

biotiques ont évolué à partir d'une molécule ancestrale présente avant la séparation entre les règnes animal et végétal. Le mode d'action de la drosomyicine n'est pas connu mais des données récentes suggèrent que les défensines de plantes agissent par l'intermédiaire de mécanismes stéréospécifiques, contrairement à ce qui est observé pour les cécropines et les défensines d'insectes.

### Les peptides riches en résidus proline : drosocine et metchnikowine

Deux peptides riches en résidus proline ont été caractérisés chez la drosophile [8] : la drosocine et la metchnikowine.

La drosocine (19 acides aminés et 30 % de résidus proline) a la particularité de posséder une modification post-traductionnelle de type O-glycosidique. Le motif disaccharidique (N-acétylgalactosamine-galactose) est lié au résidu thréonine en position 11 par l'osamine (figure 4). L'activité de la drosocine est dirigée contre les bactéries à Gram négatif et contre la souche à Gram positif *Micrococcus luteus*. La concentration minimale inhibitrice varie entre  $0,2$  et  $10 \mu\text{M}$  suivant le micro-organisme considéré et six heures sont nécessaires pour observer la mort des bactéries. Cette activité lente de la drosocine contraste avec celle des défensines dans lesquelles moins d'une minute est nécessaire pour tuer *Micrococcus luteus*. Des données récentes obtenues sur l'énantiomère D de drosocine suggèrent que la drosocine agit

Défensines d'insectes diptères	
<i>Drosophila melanogaster</i>	ATCDLLSKWNWHTACAGHCIAKGFKGGYCNDKAVCVCRN
<i>Phormia terranovae</i>	ATCDLLSGTGINHSACAHAHCLLRGNRGGYCNGKGVCVCRN
<i>Sarcophaga peregrina</i>	ATCDLLSGTGINHSACAHAHCLLRGNRGGYCNGKAVCVCRN
Drosomyicine de drosophile	DCL--SGRYKGPICAVWDNETCRRVC--KEEGRSSGHC---SPSLKWCCEG-C
Défensine de plante <i>Rs-AFP2</i>	ZKLCQRPSTWVGVC--NNACKNQICINLEKARHGSCNYVFPAAHKCICYFPC

Figure 3. La défensine de drosophile et la drosomyicine. Comparaison entre (1) la défensine de drosophile et les membres les plus représentatifs des défensines de diptères et (2) la drosomyicine et la défensine d'une plante brassicacée *Raphanus sativus* (*RsAFP2*).

par un mécanisme stéréospécifique [15]. La présence de la substitution O-glycosidique est indispensable pour une activité maximale. Des études par dichroïsme circulaire sur la drosocine synthétique montrent que la molécule n'adopte pas de structure secondaire particulière et que le motif disaccharidique rigidifie sensiblement la molécule [15]. Le génome de la drosophile ne contient qu'un seul gène qui code pour la drosocine sous forme d'un précurseur (peptide signal-drosocine-proséquence) [8]. La drosocine représente le prototype d'une nouvelle classe de peptides antibiotiques naturels, les peptides O-glycosylés. Ce type de modification post-traductionnelle a été retrouvé sur d'autres antibiotiques d'insectes : (1) la pyrrocoricine de la punaise *Pyrrocoris apterus* (hémiptère) ; (2) les lébocines du ver à soie *Bombyx mori* (lépidoptère) et plus récemment les formaecines de la fourmi *Myrmecia gulosa* (hyménoptère) [16] (figure 4). Comme pour la drosocine, l'activité de ces dernières molécules est dirigée contre les bactéries à Gram négatif. Ce type de substitution O-glycosidique a été égale-

ment retrouvé dans le domaine amino-terminal de la diptéricine, un peptide antibactérien riche en résidus glycine de *Phormia*. La metchnikowine existe sous deux formes (26 acides aminés dont 25 % de résidus prolines qui ne diffèrent que par un seul acide aminé (position 3), histidine ou arginine (figure 4). A l'opposé des autres peptides antimicrobiens riches en résidus proline actifs sur les bactéries à Gram négatif, la metchnikowine est active sur les bactéries à Gram positif et sur les champignons filamenteux. Son mode d'action n'est pas connu. La metchnikowine est synthétisée sous forme d'une préproséquence et, contrairement à ce qui a été observé pour la drosocine, la proséquence précède la séquence [17]. Plusieurs molécules riches en résidus proline ont été caractérisées chez les insectes autres que la drosophile (figure 4). Leur étude comparative montre qu'elles forment une seule famille chez laquelle l'abaecine isolée chez l'abeille *Apis mellifera* (hyménoptère) a la plus grande masse moléculaire. La drosocine présente de fortes similitudes avec les apidae-

cines des hyménoptères (65 %), la pyrrocoricine et les métalnikowines des hémiptères (55 %) et la partie amino-terminale de l'abaecine. Les métalnikowines présentent plus de similitudes structurales avec la drosocine et la pyrrocoricine qu'avec les apidaecines, l'abaecine et la metchnikowine. La metchnikowine présente 34 % de résidus identiques avec la partie carboxy-terminale de l'abaecine. Une origine commune a été proposée pour ces peptides : une molécule ancestrale (protoabaecine) aurait donné naissance à la metchnikowine par raccourcissement de la partie amino-terminale et aux autres peptides par raccourcissement de la partie carboxy-terminale [17].

### Les peptides riches en résidus glycine : la diptéricine et les attacines

Chez la drosophile, plusieurs gènes ont été clonés qui codent pour des molécules présentant des similitudes structurales avec les attacines et les diptéricines isolées chez d'autres insectes. La drosophile exprime plusieurs gènes codant pour des attacines. L'une des attacines de drosophile présente 33 % d'identité de séquence avec les sarcotoxines IIA-D, peptides de 30 kDa isolés à partir de *Sarcophaga*, et 30 % d'identité de séquence avec les attacines de *Hyalophora* et de *Bombyx* (figure 5). Les attacines agissent sur la croissance d'un nombre limité de bactéries à Gram négatif. Chez *Escherichia coli*, elles interfèrent sur la transcription des gènes *omp* impliqués dans la synthèse des porines, protéines qui forment des canaux au niveau de la membrane. Cette modification de la transcription des gènes *omp* se traduit par une rupture de l'intégrité de la membrane externe d'*Escherichia coli*.

Les diptéricines (9 kDa), actives sur les bactéries à Gram négatif, ont été initialement isolées à partir de *Phormia* et de *Sarcophaga* (pour revue voir [7]). Le gène de la diptéricine de drosophile a été isolé sur la base de ses similitudes avec la diptéricine de *Phormia*. La diptéricine de drosophile est codée sous forme d'un pré-peptide. Les diptéricines sont constituées d'un domaine amino-terminal riche en résidus proline, et

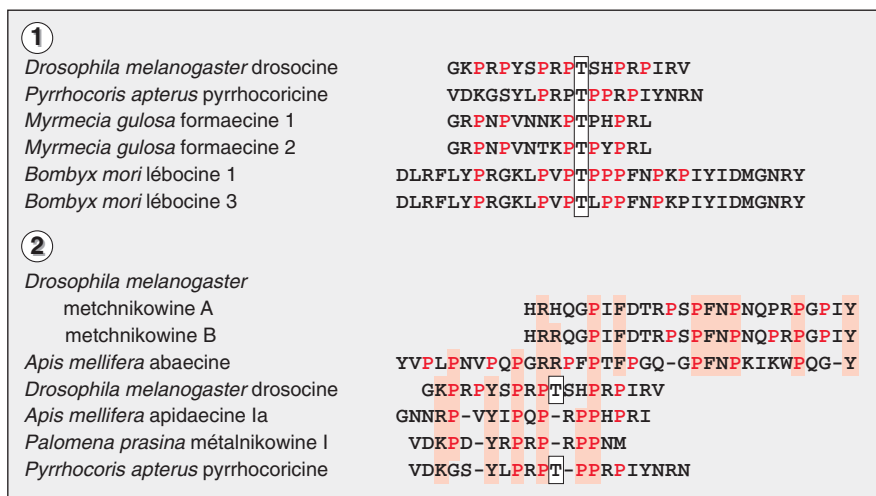


Figure 4. **Structure primaire des peptides riches en résidus proline des insectes.** (1) La structure primaire de la drosocine de drosophile est représentée avec les autres peptides antibactériens O-glycosylés des insectes (pyrrocoricine, lébocines, formaecines). (2) La structure primaire des peptides riches en proline de la drosophile (metchnikowines et drosocine) est comparée avec l'abaecine et l'apidaecine d'*Apis mellifera*, la métalnikowine I de *Palomena prasina*, et la pyrrocoricine de *Pyrrocoris apterus*. Les résidus proline sont en rouge, les résidus thréonine O-glycosylés encadrés en noir et les similitudes structurales sont tramées en rose. La substitution O-glycosidique portée par la drosocine, la pyrrocoricine, les lébocines et les formaecines a pour structure : galactose-N-acétylgalactosamine ( $\alpha \rightarrow O$ ).

d'une partie centrale et carboxy-terminale riches en résidus glycine (figure 5). Des études de spectrométrie de masse ont montré que la diptéricine de *Phormia* porte trois modifications post-traductionnelles: une amidation carboxy-terminale et deux O-glycosylations (N-acétylgalactosamine-galactose-glucose) portées par deux résidus thréonine (figure 5). Ces motifs saccharidiques sont plus complexes que celui porté par la drosocine. Il est intéressant de noter que le domaine riche en résidus proline présente de fortes similitudes structurales avec la drosocine et la pyrrococine (figure 4). La diptéricine de *Sarcophaga* n'est pas O-glycosylée. Pour ce qui est de la diptéricine de drosophile, les données déduites de la séquence nucléotidique ne permettent pas d'apporter de réponse. Le mode d'action des diptéricines (effet détergent, formation de canaux, de pores ou mécanisme stéréospécifique) ainsi que leur structure 3D restent à définir.

## Discussion et conclusions

Plusieurs mécanismes sont mis en jeu par les organismes vivants pour lutter contre des agents infectieux tels que

des micro-organismes. Le mécanisme le plus complexe est celui qui permet la réalisation d'un répertoire d'immunoglobulines mais il existe un autre mécanisme plus ancien et largement répandu dans le monde animal et végétal qui est la production de peptides antimicrobiens. Leur rôle protecteur, assimilé à une réponse immunitaire innée, a été identifié chez la drosophile (voir l'article de Bruno Lemaître, p. ??? de ce numéro). Plus récemment, il a été montré, chez l'homme, que des patients atteints de mucoviscidose n'étaient plus protégés contre des infections causées par la bactérie *Pseudomonas aeruginosa* contrairement à ce qui pouvait être observé chez des individus sains. Plusieurs hypothèses sont émises concernant cette perte de résistance à *Pseudomonas* chez ce type de patients. L'une d'entre elles suggère que la concentration en sels élevée observée dans les voies aériennes de ces patients provoque une diminution d'activité de la  $\beta$ -défensine, peptide antimicrobien sécrété entre autre par les cellules trachéales (m/s 1997; n° 6-7, p. 861). Cette augmentation de la teneur en sels est le résultat d'une mutation dans une protéine impliquée dans la formation d'un canal chlore.

Les peptides antimicrobiens représentent par conséquent un élément important de la réponse immunitaire innée de toutes les espèces vivantes. Comme nous avons pu le voir chez la drosophile, et plus généralement chez les insectes, les peptides antimicrobiens ont des structures variées et leurs concentrations dans le sang d'insectes peut varier considérablement pour atteindre des valeurs proches de 100  $\mu$ M. Une telle concentration rappelle ce qui est observé dans la réponse inflammatoire de phase aiguë des mammifères où certaines protéines (protéine C-réactive et protéine sérique amyloïde A) voient leur concentration augmenter d'un facteur 10 (pour revue voir [18]).

Dans des conditions *in vitro*, les peptides antimicrobiens les plus actifs d'insectes, de vertébrés ou de plantes tuent les souches sensibles à une concentration minimale inhibitrice souvent inférieure à la micromole par litre. Même s'il existe de nombreuses substances antimicrobiennes plus efficaces, les peptides antimicrobiens peuvent représenter une nouvelle génération d'antibiotiques. En effet, leurs avantages sont nombreux. Les peptides antimicrobiens sont capables de tuer rapidement les cel-



Figure 5. Structures primaires des attacines et des diptéricines de diptères. Les structures primaires de l'attacine et de la diptéricine de drosophile sont déduites des séquences d'ADN complémentaires. La structure primaire de la diptéricine de drosophile est comparée à la diptéricine de *Phormia terranovae* qui présente la particularité de porter une modification post-traductionnelle de type O-glycosidique et à celle de *Sarcophaga peregrina* non glycosylée. Les similitudes structurales sont tramées en rose. La substitution O-glycosidique portée par les deux thréonines de la diptéricine de *Phormia terranovae* (T encadrés en noir) a pour structure: glucose-galactose-N-acétylgalactosamine- $(\alpha \rightarrow O)$ . Les résidus glycine sont en rouge.

lules cibles (moins de la minute pour les défensines d'insectes par exemple), leur spectre d'activité est le plus souvent large. Ils sont pour certains d'entre eux capables d'affecter la croissance de souches pathogènes résistantes aux antibiotiques conventionnels. Leur mode d'action (effet détergent, formation de structures organisées ou mécanisme stéréospécifique) n'est pas en faveur de l'apparition rapide de souches résistantes à ces peptides antibiotiques. Ces raisons font que les scientifiques s'intéressent de plus en plus aux peptides antimicrobiens d'origine animale ou végétale codés par des gènes spécifiques.

Il est évident que la lutte contre les micro-organismes résistants aux antibiotiques conventionnels est devenue un *challenge* de première urgence qui nécessite la découverte de nouvelles classes d'antibiotiques avec un mode d'action qui permettra d'éviter l'acquisition rapide d'une résistance. Une des particularités des peptides antimicrobiens d'insectes est leur absence de toxicité vis-à-vis des cellules de mammifères contrairement à ce qui peut être observé pour une grande partie des peptides antimicrobiens des vertébrés. Les peptides antimicrobiens des insectes représentent par conséquent une possibilité de nouvelle génération d'antibiotiques ■

#### Remerciements

Je tiens à remercier les collègues qui ont participé aux travaux sur les peptides antimicrobiens de la drosophile, Jules Hoffmann, directeur du laboratoire, le Dr F. Vovelle et le regretté Dr P. Sodano du Centre de Biophysique du Cnrs à Orléans pour les illustrations sur la structure 3D de la défensine de *Phormia* et de la drosomyicine.

#### RÉFÉRENCES

- Hultmark D. Immune reactions in *Drosophila* and other insects: a model for innate immunity. *Trends Genet* 1993; 9: 178-83.
- Hoffmann JA. Innate immunity of insects. *Curr Opin Immunol* 1995; 7: 4-10.
- Hoffmann JA, Reichhart JM, Hetru C. Innate immunity in higher insects. *Curr Opin Immunol* 1996; 8: 8-13.
- Ratcliffe NA. Cellular defense responses of insects: unresolved problems. In: Beckage NE, Thompson SN, Federici BA, eds.

*Parasites and pathogens of insects*. San Diego: Academic Press, 1993: 267-304.

- Streiner H, Hultmark D, Engström A, Bennich H, Boman HG. Sequence and specificity of two antibacterial proteins involved in insect immunity. *Nature* 1981; 292: 246-8.
- Boman HG. Peptide antibiotics and their role in innate immunity. *Annu Rev Immunol* 1995; 13: 61-92.
- Hetru C, Hoffmann D, Bulet P. Antimicrobial peptides from insects. In: Brey PT, Hultmark D, eds. *Molecular mechanisms of immune response in insects*. Londres: Chapman and Hall Press, 1997: 40-66.
- Hoffmann JA, Reichhart JM. *Drosophila* immunity. *Trends Cell Biol* 1997; 7: 309-16.
- Shai Y. Mode of action of antibacterial peptides. In: Brey PT, Hultmark D, eds. *Molecular mechanisms of immune response in insects*. Londres: Chapman and Hall Press, 1997: 111-34.
- Fehlbaum P, Bulet P, Michaut L, Lagueux M, Broekaert WF, Hetru C, Hoffmann JA. Insect immunity: septic injury of *Drosophila* induces the synthesis of a potent antifungal peptide with sequence homology to plant antifungal peptides. *J Biol Chem* 1994; 269: 53159-63.
- Ganz T, Lehrer R. Antimicrobial peptides of vertebrates. *Curr Opin Immunol* 1998; 10: 41-4.
- Ganz T, Weiss J. Antimicrobial peptides of phagocytes and epithelia. *Semin Hematol* 1997; 34: 343-54.
- Landon C, Sodano P, Hetru C, Hoffmann JA, Ptak M. Solution structure of drosomycin, the first antifungal protein from insects. *Protein Sci* 1997; 6: 1878-84.
- Broekaert WF, Terras FRG, Cammue BPA, Osborn RW. Plant defensins: novel antimicrobial peptides as components of the host defense system. *Plant Physiol* 1995; 108: 1353-8.
- Bulet P, Urge L, Ohresser S, Hetru C, Otvos L. Enlarged scale purification and range of activity of drosocin, an O-glycosylated antibacterial peptide of *Drosophila*. *Eur J Biochem* 1996; 238: 64-9.
- Mackintosh JA, Veal DA, Beattie AJ, Gooley AA. Isolation from an ant *Myrmecia gulosa* of two O-glycosylated proline-rich antibacterial peptides. *J Biol Chem* 1998; 273: 6139-43.
- Levashina L, Ohresser S, Bulet P, Reichhart JM, Hetru C, Hoffmann JA. Metchnikowin, a novel immune-inducible proline-rich peptide from *Drosophila* with antibacterial and antifungal properties. *Eur J Biochem* 1995; 233: 694-70.
- Salies JP, Rouet P, Banine F, Claeysens S. Transcription des gènes de protéines plasmatiques dans le foie au cours de l'inflammation aiguë systémique. *Med Sci* 1997; 13: 335-44.

## Summary

### *Drosophila* antimicrobial peptides

Insects are remarkably resistant to microbial infections. Their host defense relies on cellular and humoral responses. The cellular mechanism involves phagocytosis and encapsulation of pathogens. The humoral response includes activation of proteolytic cascades leading to coagulation and melanization and synthesis of antimicrobial peptides acting in the hemolymph to fight the infection. Over the last years, *Drosophila melanogaster* has become a favourite model to investigate the molecular mechanisms of insect immunity. In *Drosophila*, seven distinct molecules plus isoforms have been characterized, the antibacterial peptides cecropins, defensin, drosocin, dipterocin and attacins, the antifungal drosomycin and metchnikowins which are active against both bacteria and fungi. These molecules belong to the 4 families of insect antimicrobial peptides namely (1) peptides forming  $\alpha$  helices, (2) cysteine-rich peptides, (3) proline-rich peptides and (4) peptides with a high content in glycine residues. These antibiotics have in common a positive net charge which allows them to interact with the membrane of the microorganisms. In response to an experimental infection, the overall hemolymph concentration of *Drosophila* antimicrobial peptides synthesized by the fat body (a functional equivalent of the mammalian liver) reaches the value of 200  $\mu$ M, half of which is accounted for drosomycin. Recent studies on the regulation of the antimicrobial peptide gene expression during the systemic *Drosophila* immune response has revealed striking similarities with vertebrate innate immunity.

#### TIRÉS À PART

P. Bulet.