

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À MONTRÉAL

ÉTUDE DU MÉCANISME MOLÉCULAIRE DES ACTIVITÉS ANTIMICROBIENNES DU PEPTIDE
AMYLOIDOGÉNIQUE IAPP

MÉMOIRE

PRÉSENTÉ

COMME EXIGENCE PARTIELLE

DE LA MAÎTRISE EN BIOCHIMIE

PAR

HOANG CAT VY NGUYEN

AOÛT 2025

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À MONTRÉAL
Service des bibliothèques

Avertissement

La diffusion de ce mémoire se fait dans le respect des droits de son auteur, qui a signé le formulaire *Autorisation de reproduire et de diffuser un travail de recherche de cycles supérieurs* (SDU-522 – Rév.12-2023). Cette autorisation stipule que «conformément à l'article 11 du Règlement no 8 des études de cycles supérieurs, [l'auteur] concède à l'Université du Québec à Montréal une licence non exclusive d'utilisation et de publication de la totalité ou d'une partie importante de [son] travail de recherche pour des fins pédagogiques et non commerciales. Plus précisément, [l'auteur] autorise l'Université du Québec à Montréal à reproduire, diffuser, prêter, distribuer ou vendre des copies de [son] travail de recherche à des fins non commerciales sur quelque support que ce soit, y compris l'Internet. Cette licence et cette autorisation n'entraînent pas une renonciation de [la] part [de l'auteur] à [ses] droits moraux ni à [ses] droits de propriété intellectuelle. Sauf entente contraire, [l'auteur] conserve la liberté de diffuser et de commercialiser ou non ce travail dont [il] possède un exemplaire.»

REMERCIEMENTS

Le parcours des études supérieures ressemble aux rues de Montréal parsemées de nids-de-poule...et parfois même de cratères dignes de la surface lunaire. Chaque route demande une vigilance constante pour éviter de tomber, tout en s'efforçant de ne pas abîmer la voiture, ou le moral. Il faut parfois faire des détours imprévus, changer une roue crevée en plein hiver québécois pénible, ou même pousser la voiture à bout de souffle sur une pente interminable en direction du Mont-Tremblant. Et pourtant, malgré ces cahots, on découvre des paysages insoupçonnés, des moments de joie, et surtout, des compagnons de voyage qui rendent l'aventure inoubliable.

Que ce soit un mémoire de maîtrise ou une thèse de doctorat, une chose est certaine: ce n'est jamais vraiment un exploit solitaire. Certes, les expériences et les analyses peuvent faire en solo (souvent à 23h, travailler comme un gremlin). Mais pour être tout à fait sincère, cela demande une petite armée de bienveillance : les ami(es), la famille, les mignons à quatre pattes et les membres du labo. Les remerciements, c'est souvent la seule section que mes proches liront sans froncer les sourcils. Alors autant en profiter pour graver, noir sur blanc, un grand merci à tout le monde. Ce n'est pas juste une formalité ou une tradition, c'est un hommage imprimé dans ce document final.

Steve, dont le nom pourrait donner des frissons à certaines personnes, je suis très reconnaissante de t'avoir comme directeur. Tu es un bon directeur de recherche, sans aucun doute : Ton éthique de travail rigoureux, une pédagogie créative et ton cœur dédiés à la réussite de ses étudiant(e)s. Tout au long de mon parcours de maîtrise, tu n'arrêtes pas de m'encourager et donner les conseils. Surtout, avec la patience, non seulement tu ne perds pas de l'espoir en moi, tu m'as également aidé à contourner les obstacles et à trouver des solutions, même lorsque la route semblait infranchissable. Tes conseils, qu'ils soient d'ordre professionnel ou personnel, ne sont jamais jetés par la fenêtre. Merci beaucoup pour ton exemple, ton inspiration, ton support et ta patience.

Un immense merci à Margo, Trang et Mathew. Margo, une scientifique extraordinaire et ma superviseure de stage, qui m'a orientée dans la bonne direction et qui m'a appris à être indépendante. Merci pour ta patience et ton soutien. Chị Trang, la *sempai* et la *Yoda* du labo, toujours là pour aider tout le monde. Cảm ơn chị Trang rất nhiều pour les peptides lì lợm và cứng đầu, et surtout pour ta disponibilité, tes précieux conseils et tes coups de main quand j'ai besoin de l'aide. Ton soutien a été inestimable. Mathew, a great

philosopher and confidant. I could talk to you about anything, whether it was serious discussions or dark humour. You always listen without judgement. Your openness about life's challenges, including mental health, has inspired me and helped me more than words can express.

Người Việt mình có câu tục ngữ “*công sinh không bằng công dưỡng*”. Những gì con có được ngày hôm nay đều nhờ một tay mẹ chăm lo và nuôi nấng. Từ những bữa cơm ngon lành tới những lời động viên khi lúc con mệt mỏi, sự yêu thương và sự hy sinh của mẹ là điều quý giá nhất trong cuộc đời con. Bên cạnh đó, con cũng rất may mắn khi được sinh ra và lớn lên trong một gia đình đầy tình yêu thương. Di Phượng, cậu Công, dì Trân và ông bà ngoại luôn dành cho con sự quan tâm và không để con thiếu thốn. Tình cảm mọi người dành cho con là động lực lớn nhất để con cố gắng mỗi ngày.

À mes merveilleuses amies, Jihane, Laetitia, Arunima et Shabeena and to my best collaborator Arthur, qui ont toujours été présent(es) pour m'encourager, je vous dois une reconnaissance. Vos paroles réconfortantes et vos gestes de soutien ont été comme des réparations ponctuelles sur cette route cabossée : vous avez évité que je perde une roue de la voiture, ou la tête dans les moments les plus chaotiques. Vos conseils, nos échanges, et surtout nos blagues bien placées ont été les lampadaires éclairant cette route sinueuse et sombre. Vous m'avez rappelé que, même dans les moments où je voulais abandonner la voiture et partir à pied, il y avait toujours une raison de continuer. Ne serait-ce que pour arriver au prochain resto Jiji's friendly ou à un autre pays ?

À mes chère(s) ami(e)s avec qui je parle tous les jours, Sylvie, Leslie, Julia, Abel, Lourdes et Philippe, vous êtes toujours à mes côtés et votre support moral a été absolument essentiel. Vous êtes mes éclats de rire quand le stress devenait insoutenable et mes rappels constants que la vie existe au-delà des articles scientifiques. Merci pour vos mots réconfortants et pour avoir su me distraire au moment où j'en avais le plus besoin, que ce soit avec une soirée à discuter de tout ou simplement un message qui disait : Tu peux le faire Vy! J'y crois.

À mes coloc de bureau chez Marcotte, Stéphane, Rana et Kiran, merci de m'avoir accueillie dans votre bureau. J'ai eu de très belles discussions et de merveilleux moments avec vous.

Je tiens à remercier aux mignons à quatre pattes, qui m'ont accompagné dans cette aventure académique. Aux chiens toujours affectueux et enthousiastes, Koby et Cát Tường, merci pour vos accueils avec des sauts joyeux et pour vos regards pleins d'amour et/ou d'obsession (surtout quand je mangeais). Aux chats

majestueux, Marius, Léo, Augustin et Fanny, merci pour les critiques silencieuses et les tempêtes de câlins chaleureux. Vous m’avez appris l’art du calme et du détachement...sauf quand c’est l’heure de repas. Les mignons, vous avez été une grande source de réconfort, de rires, et de poils sur mes vêtements. Un véritable soutien dans tous les sens du terme.

Et finalement, je remercie à mes collègues du labo, Fred, Cécile, Mélanie, Marie-Jeanne, Alexis, Clément, Élyse, Caroline et Océane pour leur entraide, les beaux moments à Vancouver, leur précieux conseils et les beaux moments passés ensemble.

Je tiens à remercier au organisme subventionnaire, le regroupement stratégique PROTEO pour le soutien financier.

Merci à tous et à toutes.
Cảm ơn mọi người.
Gracias a todos.

DÉDICACE

“all betta?”

“get down get funky”

Gizmo

TABLE DES MATIÈRES

REMERCIEMENTS.....	ii
DÉDICACE.....	v
LISTE DES FIGURES.....	viii
LISTE DES TABLEAUX.....	x
LISTE DES ABRÉVIATIONS, DES SIGLES ET DES ACRONYMES	xi
RÉSUMÉ	xiii
INTRODUCTION.....	1
CHAPITRE 1 REVUE DE LITTÉRATURE	2
1.1 Les antibiotiques : de la découverte à la résistance aux antibiotiques	2
1.1.1 Les antibiotiques	2
1.1.2 La résistance aux antibiotiques	4
1.2 Les peptides antimicrobiens (PAMs)	8
1.2.1 L'origine et la diversité structurale.....	8
1.2.2 Les mécanismes d'action des PAMs	9
1.2.2.1 La lyse membranaire	10
1.2.2.2 Les cibles intracellulaires.....	12
1.3 Les fibres amyloïdes	13
1.3.1 Les fibres amyloïdes pathogéniques	13
1.3.2 Les fibres amyloïdes fonctionnelles	15
1.3.3 Le mécanisme de formations des fibres amyloïdes	17
1.4 Islet Amyloid Polypeptide (IAPP)	18
1.4.1 La découverte et la phylogénie de l'IAPP	18
1.4.2 Les structures secondaires de l'IAPP	20
1.4.3 Les structures quaternaires de l'IAPP.....	21
1.4.4 Les rôles physiologiques de l'IAPP.....	23
1.4.5 La relation entre la toxicité et l'auto-assemblage de l'IAPP	25
1.5 La problématique, l'hypothèse et les objectifs.....	28
CHAPITRE 2 ARTICLE PROBING THE RELATIONSHIPS BETWEEN SELF-ASSEMBLY AND THE ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF AMYLOIDOGENIC PEPTIDES: THE ISLET AMYLOID POLYPEPTIDE AS A CASE STUDY	31
2.1 Résumé.....	32
2.2 Abstract	33
2.3 Introduction.....	34

2.4	Materials and methods	36
2.4.1	Materials	36
2.4.2	Peptide synthesis, purification and monomerization.....	36
2.4.3	Preparation of IAPP prefibrillar species and amyloid fibrils	37
2.4.4	Fluorescence spectroscopy	37
2.4.5	Circular dichroism spectroscopy	37
2.4.6	Transmission electron microscopy	38
2.4.7	Atomic force microscopy.....	38
2.4.8	Leakage of lipid vesicles	38
2.4.9	Determination of bacteria concentration by optical density	39
2.4.10	Determination of antibacterial activity of peptides	39
2.4.11	Measurement of bacterial metabolic activity by the reduction of resazurin.....	39
2.4.12	Confocal fluorescence microscopy	40
2.4.13	Agglutination assay	40
2.4.14	Scanning electron microscopy.....	40
2.5	Results	41
2.5.1	Effects of IAPP quaternary structure on antibacterial activity	41
2.5.2	IAPP monomers disrupt anionic lipid membranes whereas amyloid fibrils induce bacteria agglutination.....	44
2.5.3	Relationships between the amyloidogenicity of IAPP and its antimicrobial activity.....	47
2.5.4	Effect of IAPP α -helical folding on its antimicrobial potential.....	49
2.6	Discussion	52
2.7	Supplementary data	55
2.8	Acknowledgements	63
	CHAPITRE 3 DISCUSSION.....	64
3.1	Les espèces préfibrillaires présentent une activité antimicrobienne marquée sur les bactéries, contrairement aux fibres.	64
3.2	Les monomères de l'IAPP perturbent les membranes modèles anioniques alors que les fibres piègent les bactéries.....	66
3.3	Un auto-assemblage modéré apparaît essentiel pour l'effet antimicrobien.	68
3.4	La dynamique des structures secondaires de l'IAPP est critique pour la perturbation membranaire.	69
	CONCLUSION ET PERSPECTIVES.....	71
	BIBLIOGRAPHIE	73

LISTE DES FIGURES

Figure 1.1 Chronologie du développement des antibiotiques issus de différentes sources.	4
Figure 1.2 Mécanismes de résistances bactériennes aux antibiotiques.	6
Figure 1.3 Résistance antibiotique à travers le temps.	7
Figure 1.4 Sources des peptides antimicrobiens naturels, incluant les peptides synthétiques.	8
Figure 1.5 Représentation des cinq classes structurales des PAMs, avec des PAMs représentatifs.	9
Figure 1.6 Représentation du mécanisme d'action des PAMs dans la lyse de la membrane plasmique bactérienne.	11
Figure 1.7 Représentation des mécanismes de translocation des PAMs sans perturbation membranaire.	13
Figure 1.8 La cinétique de formation des fibres amyloïdes du modèle de la polymérisation nucléée par la fluorescence ThT.	18
Figure 1.9 Séquences primaires de l'IAPP des différents animaux mammifères.	20
Figure 1.10 L'organisation des fibres amyloïdes : de la structure quaternaire à la structure secondaire. .	22
Figure 1.11 Rôles physiologiques de l'IAPP chez l'humain.	24
Figure 1.12 Toxicité de l'IAPP aux différentes phases de l'assemblage.	27
Figure 1.13 Trois mécanismes proposés de perturbation membranaire par l'IAPP.	28
Figure 2. 1 IAPP primary sequence and characterization of quaternary structures.	42
Figure 2. 2 The antimicrobial activity of IAPP depends on its quaternary state.	43
Figure 2. 3 Mechanisms of the antimicrobial activity of IAPP.	45
Figure 2. 4 Effect of IAPP amyloidogenicity on its antimicrobial activity.	48
Figure 2. 5 Effect of modulating IAPP helical conformation on the antimicrobial activity.	50
Figure S2. 1 Bacterial growth curves in present of different quaternary structures of IAPP.	55
Figure S2. 2 Metabolic activity of <i>E. coli</i> incubated with IAPP monomers.	56
Figure S2. 3 Effect of IAPP monomers on viable <i>E.coli</i> colonies overtime.	57
Figure S2. 4 Agglutination curve of <i>E. coli</i> with different concentrations of Aurein 1.2.	58

Figure S2. 5 SEM image of Aurein 1.2 at 100 ug/mL after 8 hours of incubation on <i>E. coli</i>	59
Figure S2. 6 Agglutination curves of <i>S. epidermidis</i> with different concentrations of IAPP monomers and amyloid fibrils.....	60
Figure S2. 7 Metabolic activity of <i>E. coli</i> incubated with rIAPP.....	61
Figure S2. 8 Kinetics of self-assembly of IAPP derivatives.	62
Figure S2. 9 Kinetics of self-assembly of D-IAPP, IAPP & c[Pra24Azk28].	63
Figure 3.1 Illustration de l'activité d'agglutination des fibres du peptide A β	66

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1.1 Exemples de fibres amyloïdes associées aux maladies.	15
Tableau 1.2 Exemples des fibres fonctionnelles.....	17

LISTE DES ABRÉVIATIONS, DES SIGLES ET DES ACRONYMES

ADN	acide désoxyribonucléique
AFM	<i>atomic force microscopy</i>
AMPA	acide α -amino-3-hydroxy-5-méthyl-4-isoxazolepropionique
AMPs	<i>antimicrobial peptides</i>
ANS	<i>anilino-8-naphthalenesulfonate</i>
AP	<i>area postrema</i>
APD3	<i>Antimicrobial Peptide Database</i>
A β	amyloid- β
CA-MRSA	<i>Staphylococcus aureus</i> résistantes à la méthiciline d'origine communautaire
CCK	cholécystokinine
CPP	peptides de pénétration cellulaire
DMSO	<i>dimethyl sulfoxide</i>
DMV	noyau moteur dorsal du nerf vague
DOPC	<i>1,2-dioleoyl-sn-glycero-3-phosphocholine</i>
DOPG	<i>2-dioleoyl-sn-glycero-3-phospho(1'-rac-glycerol)</i>
EDT	<i>ethanedithiol</i>
ER	réticulum endoplasmique
FDA	Agence américaine des produits alimentaires et médicamenteux
GLP-1	<i>glucagon-like peptide-1</i>
H ₂ O ₂	peroxyde d'hydrogène
HCTU	<i>2-(6-chloro-1-H-benzotriazole-1-yl)-1,1,3,3-tetramethylaminium hexafluorophosphate</i>
IAPP	<i>Islet Amyloid Polypeptide</i>
IDP	peptide intrinsèquement désordonné
LA-MRSA	<i>Staphylococcus aureus</i> résistantes à méthiciline d'origine fermière
LC/ESI-TOF	<i>electrospray ionization mass spectrometry</i>
LUVs	<i>large unilamellar vesicles</i>
MHB	<i>Mueller-Hinton Broth</i>
MIC	concentration minimale inhibitrice
MRE	<i>mean residue ellipticity</i>

MRSA	<i>Staphylococcus aureus</i> résistantes à la méthiciline
NTS	noyau du faisceau solitaire
PAMs	peptides antimicrobiens
PI	iodure de propidium
ROS	espèces réactives de l'oxygène
RP-HPLC	<i>reverse-phase high performance liquid chromatography</i>
SEM	<i>scanning electron microscopy</i>
T1DM	diabète de type I ou dépendant de l'insuline
T2DM	diabète du type II ou indépendant de l'insuline
TEM	<i>transmission electron microscopy</i>
TFA	<i>trifluoroacetic acid</i>
TFE	<i>2,2,2-Trifluoroethanol</i>
ThT	<i>thioflavin-T</i>
VIH-1	virus immunodéficience humaine du type 1
VISA	<i>Staphylococcus aureus</i> intermédiaires à la vancomycine
VRSA	<i>Staphylococcus aureus</i> résistantes à la vancomycine

RÉSUMÉ

Face à la montée alarmante de la résistance aux antibiotiques, la recherche de nouveaux agents antimicrobiens constitue une urgence de santé publique. Parmi les pistes explorées, les peptides amyloïdogéniques, historiquement associés à des pathologies neurodégénératives ou métaboliques, suscitent un intérêt important au sein de la communauté scientifique en raison de leurs similitudes structurales avec les peptides antimicrobiens (PAMs), notamment leur capacité à interagir avec les membranes et à s'auto-assembler en fibres. Ce mémoire de recherche s'inscrit dans cette perspective et ce, en ciblant l'islet amyloid polypeptide (IAPP), un peptide reconnu pour son implication dans le diabète de type 2, mais dont les propriétés antimicrobiennes demeurent controversées. L'objectif principal de ce projet est d'élucider les liens entre les structures quaternaires de l'IAPP, sa capacité à s'auto-assembler et son activité antimicrobienne. À cette fin, trois états quaternaires de l'IAPP (monomères, préfibrilles et fibres) ainsi qu'une série d'analogues modulant sa propension à s'agréger ou à adopter une hélice- α ont été évaluées sur deux types de bactéries, soit *E. coli* et *S. epidermidis*. Les résultats montrent que seules les formes solubles (monomères et oligomères) présentent une activité antimicrobienne modérée, associée à une perturbation des membranes bactériennes. En revanche, les fibres sont inactives, bien qu'elles soient capables d'agglutiner les bactéries, suggérant un mécanisme d'action indirect. Il apparaît que l'efficacité antimicrobienne dépend d'un équilibre dynamique d'autoassemblage, où des formes solubles persistent. De plus, cette étude suggère que la conformation hélicoïdale joue un rôle dans la perturbation membranaire, mais que la flexibilité structurale du peptide est tout aussi cruciale pour l'activité antimicrobienne. Malgré certaines similitudes, l'IAPP ne répond pas aux critères fonctionnels d'un peptide antimicrobien. Son activité antimicrobienne reste contextuelle, modérée, et difficilement dissociable de sa toxicité cellulaire. Ce travail met en garde contre une généralisation des propriétés antimicrobiennes à l'ensemble des peptides amyloïdogéniques, et appelle à une évaluation mécanistique de chaque polypeptide.

Mots clés : islet amyloid polypeptide, peptides antimicrobiens, fibres amyloïdes, auto-assemblage, agglutination bactérienne

INTRODUCTION

Les antibiotiques sont les composés essentiels, présents dans la nature et produits aussi bien par les microorganismes que par les humains à des fins thérapeutiques. Ils servent à combattre les infections bactériennes en inhibant leur croissance ou en tuant les pathogènes. Depuis plus de 100 ans, les antibiotiques ont transformé la médecine moderne en réduisant la mortalité liée aux maladies infectieuses et en augmentant l'espérance de vie. Cependant, l'efficacité des antibiotiques conventionnels diminue face à l'apparition des souches résistantes, ce qui impose le développement de nouvelles approches antimicrobiennes.

Parmi les alternatives, les peptides antimicrobiens (PAMs) attirent l'attention des chercheurs à travers le monde. Présents dans tous les organismes vivants, les PAMs ont une grande diversité structurale et une variété de mécanismes d'action, contrairement aux antibiotiques conventionnels qui ont une seule cible. Notamment, un petit nombre de PAMs possèdent la capacité de s'auto-assembler en fibres amyloïdes. Ces peptides partagent plusieurs propriétés aux peptides amyloïdogéniques associés à des maladies neurodégénératives ou métaboliques : amphipathicité, charge cationique et formation des fibres. Ces similitudes laissent envisager que les peptides amyloïdogéniques puissent présenter des activités antimicrobiennes, qu'elles soient fonctionnelles ou issues des effets secondaires de leur auto-assemblage.

Dans ce contexte, l'Islet Amyloid Polypeptide (IAPP), une hormone peptidique co-sécrétée avec l'insuline par les cellules β -pancréatiques et constituant principal des dépôts amyloïdes extracellulaires observés chez les patients atteints de diabète du type 2, est utilisé comme peptide modèle pour étudier la relation entre l'activité antimicrobienne et l'auto-assemblage des peptides amyloïdogéniques. En combinant des approches biophysiques et microbiologiques, ce mémoire vise à examiner de manière mécanistique comment les structures quaternaires et l'auto-assemblage de l'IAPP modulent son potentiel antimicrobien et à comprendre que l'activité antimicrobienne de l'IAPP n'est pas un rôle physiologique, mais plutôt un sous-produit de l'agrégation.

CHAPITRE 1

REVUE DE LITTÉRATURE

1.1 Les antibiotiques : de la découverte à la résistance aux antibiotiques

1.1.1 Les antibiotiques

Les antibiotiques sont des composés chimiques qui ont un effet antagoniste sur la croissance des bactéries. Ils peuvent agir comme agents bactériostatiques, qui inhibe la croissance ou la reproduction bactérienne sans les tuer, ou un agent bactéricide qui les détruisent (Berryhill *et al.*, 2023b). En fonction de la concentration du composé et du type de bactérie, un même antibiotique peut agir à la fois comme bactériostatique et bactéricide (Pankey et Sabath, 2004). Quelques exemples sont le chloramphénicol et le linézolide (Ishak *et al.*, 2025). Le chloramphénicol est un antibiotique qui a un effet bactériostatique sur les bactéries *Salmonella enterica* responsables la fièvre typhoïde (Dasopang *et al.*, 2019) et a un effet bactéricide sur plusieurs bactéries telles que *Streptococcus pneumoniae*, *Neisseria meningitidis* et *Haemophilus influenzae* causant la méningite (Rahal et Simberkoff, 1979). Le linézolide est un antibiotique synthétique qui a un effet bactériostatique contre la majorité des bactéries à Gram-positif responsables de pneumonies et de tuberculoses, telles que les staphylocoques et les enterocoques (Zurenko *et al.*, 1996), ainsi que *Mycobacterium tuberculosis* (Tato *et al.*, 2006), et un effet bactéricide contre la plupart des streptocoques (Leach *et al.*, 2011). Par ailleurs, il existe des antibiotiques strictement bactériostatiques tels que la tétracycline et l'érythromycine (Ishak *et al.*, 2025), et bactéricides comme la gentamicine (Patil et Patel, 2021) et la polymyxine B (Zavascki *et al.*, 2007). En d'autres termes, les antibiotiques n'agissent pas toujours à la fois bactériostatiques et bactéricides.

Le terme de l'antibiotique a été utilisé pour la première fois par le microbiologiste américain Selman Waksman pour désigner les substances produites naturellement par les microorganismes, telles que les bactéries ou les champignons afin d'inhiber la croissance des autres microorganismes. Couramment, le terme antibiotique inclut tous les composés antibactériens, que ce soit synthétique ou naturel (Davies et Davies, 2010).

Le comportement compétitif entre les microorganismes pour la survie a été observé depuis longtemps. Les anciennes civilisations comme l'Égypte antique, la Nubie et la Chine utilisaient des remèdes naturels tels

que le pain moisi pour traiter des blessures (Elsayad, 2023), la bière de graines contaminées pour combattre des infections (Bassett *et al.*, 1980) et le tofu fermenté pour traiter l'anthrax (Conly, 2004). Cependant, la compréhension à l'époque sur le mécanisme du comportement compétitif n'était pas élucidée et ce, jusqu'à la découverte inattendue de la péniciline par le microbiologiste écossais Alexander Fleming en 1928. Aujourd'hui, il est connu que l'ingrédient actif des pains moisissés est la péniciline. Pour la bière des nubien, les graines étaient contaminées par les bactéries du genre *Streptomyces* qui produisaient de la tétracycline. Ainsi, la découverte de la péniciline est souvent considérée comme le début de la période de "l'Âge d'or" des antibiotiques. Elle a ouvert la voie à la découverte des autres antibiotiques produits naturellement ainsi qu'à la production industrielle des antibiotiques. Cependant, ce n'est pas le premier médicament qui serait produit commercialement (figure 1.1).

La production industrielle des antibiotiques a été initialement laborieuse, jusqu'à la production du Prontosil en 1935, le premier composé antibactérien de classe sulphonamide synthétisé par les chimistes allemands de la compagnie Bayer, Josef Klarer et Fritz Mietzsch. Son activité antimicrobienne a été évaluée par le bactériologiste allemand Gerhard Domagk, inspiré des travaux de Paul Ehrlich sur les colorants azoïques (Wainwright et Kristiansen, 2011). Ce composé servait à combattre les bactéries à Gram-positif de la famille *Streptococci* et *Staphylococci* causant la fièvre puerpérale, la méningite, la pneumonie et les infections des blessures auprès des soldats de la Seconde Guerre mondiale (Watkinson-Deane, 2024). Malheureusement, cet antibiotique est inactif envers les bactéries à gram-négatif de la famille *Enterobacteriaceae*. Bien que le Prontosil ait contribué aux traitements des infections bactériennes, il n'aidait pas à prévenir et à traiter les infections des chirurgies graves (Simpson, 2013). De nos jours, il est très peu utilisé dû à ses effets indésirables potentiellement mortels (Chung, 2016) et à son efficacité à spectre étroit.

En parallèle, chez les Alliés, le développement de la production industrielle de la péniciline a eu lieu 12 ans suivant sa découverte. Le délai est dû à la difficulté de la purification et de la production à grande échelle. Bien que Fleming soit reconnu pour sa découverte de la péniciline, c'est l'équipe de Howard Florey qui a mis en place la méthode de purification et de production industrielle (Gaynes, 2017). La péniciline a révolutionné le monde de la médecine puisqu'elle a une activité à large spectre, c'est-à-dire que l'antibiotique peut agir sur plusieurs types ou souches de bactéries. De plus, elle a peu d'effets secondaires (Wanat *et al.*, 2021). Cela fait que la péniciline a éclipsé le Prontosil (Watkinson-Deane, 2024).

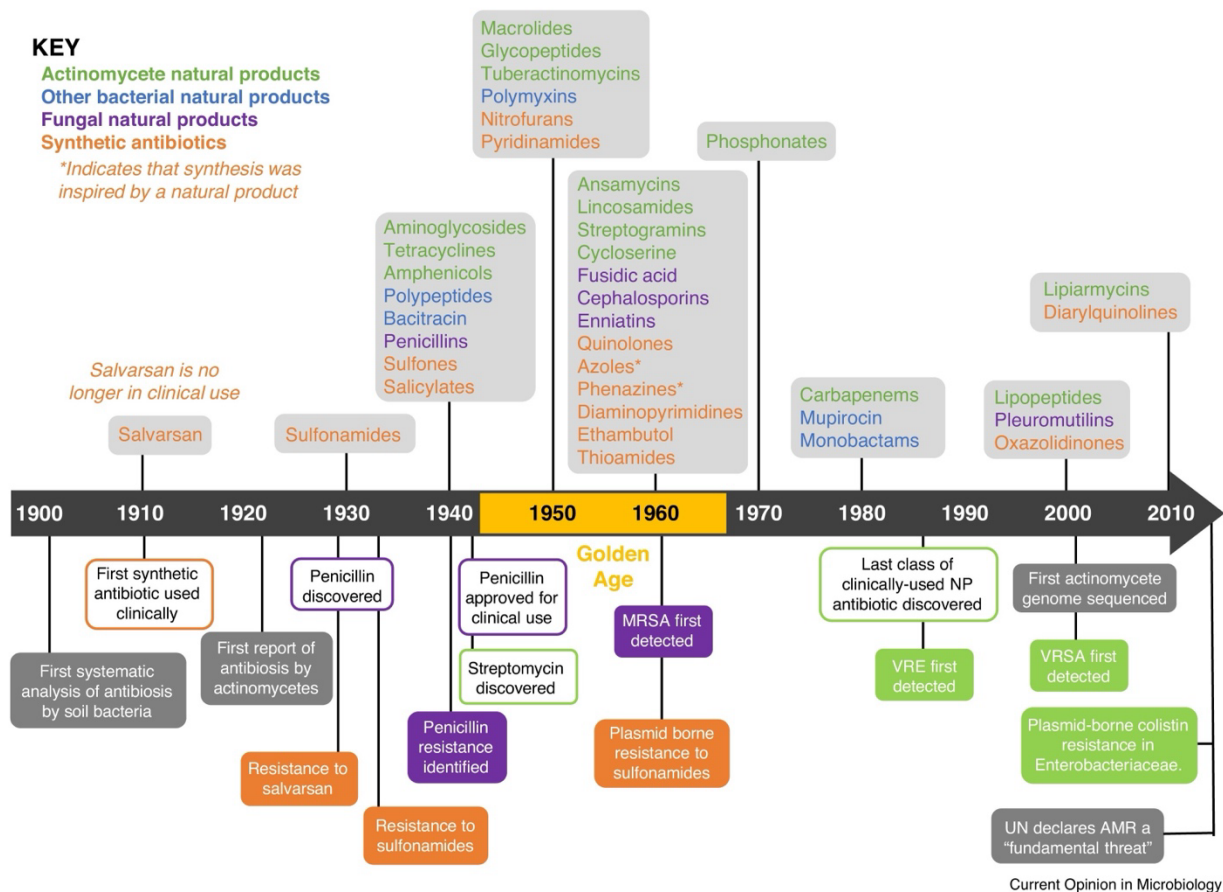


Figure 1.1 Chronologie du développement des antibiotiques issus de différentes sources. Les antibiotiques figurant en haut de la chronologie sont commercialisés, à l'exception du Salvarsan. La découverte de chaque antibiotique ainsi que l'apparition des premières résistances antimicrobiennes sont en bas de la chronologie. Figure adaptée de (Hutchings *et al.*, 2019).

1.1.2 La résistance aux antibiotiques

Dès que de nouveaux antibiotiques sont découverts, une résistance contre ces antibiotiques apparaît peu de temps après chez les bactéries (figure 1.3A). Il a été montré qu'il existe une forte relation entre l'utilisation abusive et non-réglémentée des antibiotiques en médecine et en agriculture et l'émergence des souches résistantes (Abejew *et al.*, 2024; Kang et Song, 2013). En médecine, dans certains pays, il est possible d'obtenir des antibiotiques sans ordonnance (Morgan *et al.*, 2011). Quant à l'agriculture, l'administration excessive est souvent nécessaire pour le maintien de la santé et la croissance des animaux. Le secteur agricole privilégie la production et le profit au détriment du bien-être des animaux. Les animaux demeurent dans des conditions sanitaires pauvres et sont plus susceptibles d'avoir des infections

(Kavanagh, 2023), ce qui explique le besoin d'utilisation excessive d'antibiotiques (Manyi-Loh *et al.*, 2018b). Ainsi, l'apparition des souches résistantes ne cesse d'augmenter.

En effet, la résistance antibactérienne est un processus d'évolution résultant de la sélection naturelle. Lorsqu'un antibiotique est administré, les bactéries sensibles meurent, tandis que celles qui sont résistantes survivent. Avec des applications répétées, la compétition pour les ressources entre bactéries est minime, permettant aux populations résistantes de devenir dominantes. En 2018, environ 70% des bactéries pathogènes soient résistantes à au moins un antibiotique (Uddin *et al.*, 2021), et le nombre de décès attribués à la résistance dans le monde continue d'augmenter (Naghavi *et al.*, 2024a) (figure 1.3B).

De plus, les bactéries ont la capacité extraordinaire, appelée le transfert horizontal de gènes, qui leur permet de partager et d'accepter des gènes particuliers sans avoir de relation de descendance. Par conséquent, dans l'environnement, de nombreux types de bactéries peuvent transmettre des facteurs de virulence et de résistance (Salmond et Welch, 2008). Cette capacité rend difficile le traitement des infections bactériennes avec les antibiotiques présents. Les mécanismes de résistances bactériennes envers les antibiotiques sont soit (figure 1.2): (A) exprimer des pompes d'efflux qui rejettent les molécules toxiques à l'extérieur des bactéries; (B) inactiver les antibiotiques en produisant des enzymes qui les dégradent ou des enzymes qui ajoutent des groupes chimiques au médicament pour qu'il ne puisse pas se lier à la cible; (C) limiter l'absorption de l'antibiotique par les porines avec une mutation qui provoque la perte des porines fonctionnelles ou réduire le nombre de porines sur la membrane; (D) Modifier la cible en changeant la structure de la protéine ou les charges de la membrane (Wanda, 2018).

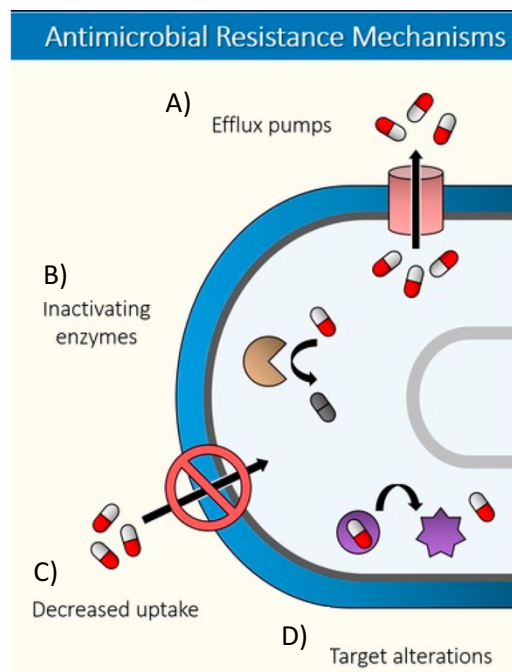


Figure 1.2 Mécanismes de résistances bactériennes aux antibiotiques. A) Rejet des antibiotiques par des pompes d’efflux spécifiques situées dans la membrane. B) Inactivation des antibiotiques par des enzymes. C) Limitation de l’absorption des antibiotiques via les porines. D) Modification structurale ou altérations des charges de la cible des antibiotiques. Figure adaptée de (Álvarez-Martínez *et al.*, 2020).

Au Canada, selon le rapport du Conseil des académies canadiennes de 2024, si aucune mesure n’est prise au sérieux, le pourcentage des infections bactériennes résistantes chez les humains pourrait passer de 26% en 2018 à 40% en 2050, entraînant environ 14 000 morts par année. Par ailleurs, le taux d’infection des bactéries *Staphylococcus aureus* résistantes à la méthiciline (MRSA) d’origine communautaire est en hausse. La résistance antibiotique impose également un énorme fardeau économique sur la société. Les coûts de traitement des infections résistantes surpassent de ceux des infections sensibles étant donné que les personnes âgées sont plus touchées en raison de leur système immunitaire affaibli et de la comorbidité (figure 1.3C). La vieillissement entraîne une diminution de la production des anticorps spécifiques, ce qui rend les personnes âgées plus susceptibles aux infections récurrentes (Howard *et al.*, 2006). Ainsi, la capacité à éliminer les infections est affaiblie. Par conséquent, cela contribue à des séjours prolongés des patients aux hôpitaux et à la propagation des bactéries résistantes aux antibiotiques (Nelson *et al.*, 2022; Theodorakis *et al.*, 2024). En outre, la résistance peut diminuer la production du secteur agricole (Founou *et al.*, 2021), ce qui pourrait coûter au Canada des centaines de milliards de dollars (Academies, 2024).

Bien que la résistance antibiotique continue d'augmenter, le développement de nouveaux antibiotiques diminue. Cela s'explique par plusieurs facteurs, notamment les restrictions d'utilisation des antibiotiques et la faible rentabilité financière. Le développement de nouveaux antibiotiques est un travail colossal par essai et erreur qui dure de 10 à 15 ans et qui coûte au moins 1 milliard de dollars américains (Hughes *et al.*, 2011). Avec les restrictions d'utilisation, les nouveaux antibiotiques seront réservés en dernier recours, réduisant ainsi les revenus pour les entreprises (Nature, 2024). Par conséquent, la découverte de nouveaux antibiotiques est cruciale, et les peptides antimicrobiens (PAMs) offrent une solution alternative prometteuse.

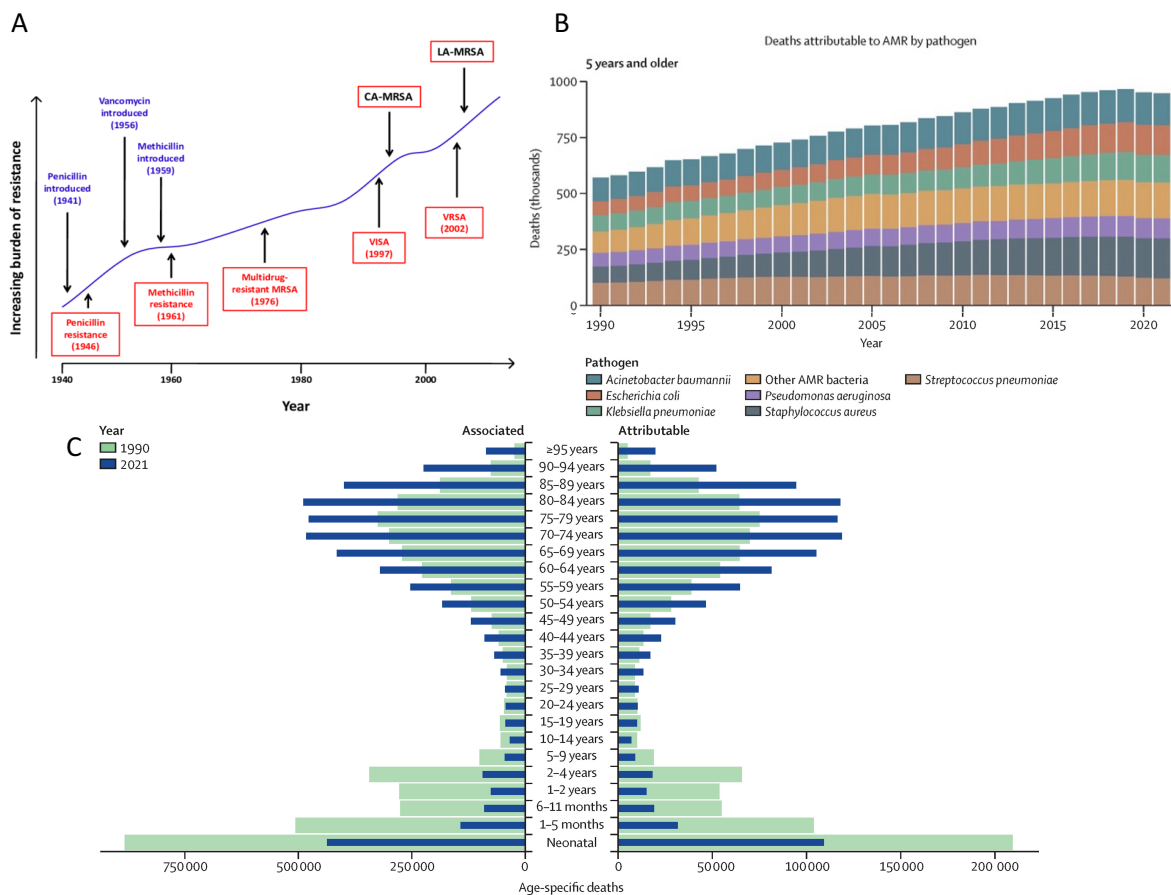


Figure 1.3 Résistance antibiotique à travers le temps. A) Émergence des souches résistantes de *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*). VISA correspond à des souches de *S. aureus* intermédiaires à la vancomycine. VRSA désigne à des souches de *S. aureus* résistantes à la vancomycine. CA-MRSA désigne à des souches de *S. aureus* résistantes à la méthiciline d'origine communautaire et LA-MRSA, des souches de *S. aureus* résistantes à méthiciline d'origine fermière. Figure adaptée de (Ehlers *et al.*, 2015). B) Nombre de décès dans le monde, chez les personnes âgées d'au moins de 5 ans, causés chaque année par les bactéries résistantes, de 1990 à 2021. Les couleurs correspondent aux pathogènes. C) Répartition de la population mondiale décédée en 1990 et en 2021, selon l'âge et la catégorie. Figures adaptées de (Naghavi *et al.*, 2024a).

1.2 Les peptides antimicrobiens (PAMs)

1.2.1 L'origine et la diversité structurale

Les PAMs, également connus en tant que *peptides de défense de l'hôte (host defense peptides)*, font partie du système immunitaire primaire chez tous les organismes vivants, des microorganismes jusqu'aux humains (Huan *et al.*, 2020), afin de combattre les pathogènes de façon non spécifique. Les PAMs se trouvent souvent dans les régions qui sont les plus exposées aux pathogènes (Hancock et Scott, 2000). Par exemple, dans la salive humaine, l'histatine, un peptide antimicrobien cationique riche en histidine, est sécrété par la glande submandibulaire afin de prévenir l'invasion des bactéries et des levures pathogéniques comme *Porphyromonas gingivalis* (Devine, 2003) et *Candida albicans* (Kavanagh et Dowd, 2004). De plus, les grenouilles sécrètent sur leur peau de multitudes PAMs qui sont efficaces contre les bactéries résistantes (Ladram et Nicolas, 2016). Selon la base de données des PAMs en 2025, il y a une grande variété de sources et la majorité des PAMs découverts proviennent des animaux (figure 1.4). Et parmi eux, les amphibiens fournissent le plus de PAMs (Wang *et al.*, 2015). Quant au deuxième groupe, les PAMs synthétiques ont été dérivés à partir des PAMs naturels afin d'améliorer leur stabilité et diminuer la cytotoxicité, étant donné que les peptides sont sensibles envers les protéases et que certains d'entre eux affichent une activité hémolytique envers les cellules encaryotes (Lima *et al.*, 2021).

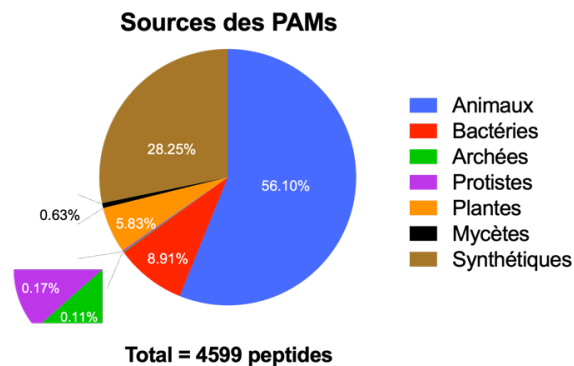


Figure 1.4 Sources des peptides antimicrobiens naturels, incluant les peptides synthétiques. Les données proviennent de la base de donnée de Antimicrobial Peptide Database (APD3), en date de janvier 2025 (Wang *et al.*, 2015).

Les PAMs, dont la longueur varie entre 10 et 100 résidus (Munk *et al.*, 2014; Savitskaya *et al.*, 2023), ont une grande diversité de structures primaires et secondaires. En effet, les PAMs peuvent être classés en cinq classes structurales: hélice- α , feuillet- β , aléatoire, cyclique et mélange de hélice- α et feuillet- β ($\alpha\beta$) (figure 1.5) (Koehbach et Craik, 2019). La majorité des PAMs sont cationiques (de +1 à +15) et

amphipathiques (Wang, 2023). La dernière propriété, l'amphipathicité, est cruciale pour l'activité antimicrobienne des PAMs. La dualité des surfaces hydrophiles et chargées positives facilite l'interaction sélective des PAMs avec la membrane bactérienne qui est chargée négativement (Glukhov *et al.*, 2005). En effet, la membrane bactérienne est de charge négative en raison de l'abondance des phospholipides et des glycanes anioniques (Wilson *et al.*, 2001) tandis que la membrane externe des cellules eucaryotes est principalement neutre (Látrová *et al.*, 2021). Quant à la surface hydrophobe des PAMs, elle interagit avec les queues lipidiques des membranes, permettant l'insertion des PAMs et la perturbation membranaire.

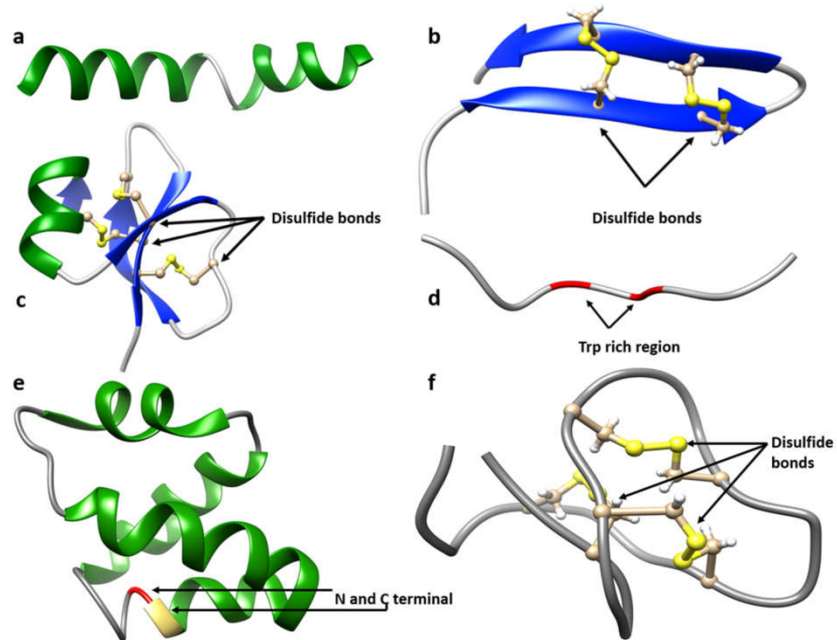


Figure 1.5 Représentation des cinq classes structurales des PAMs, avec des PAMs représentatifs. A) Hélice- α : mélittine. B) Feuillet- β : protégrine-1. C) $\alpha\beta$: hBD2. D) Aléatoire : indolicidine. D) Cyclique sans ponts disulfures : carnocycline A. F) Cyclique avec ponts disulfures, kalata B1. Figure adaptée de (Bin Hafeez *et al.*, 2021).

1.2.2 Les mécanismes d'action des PAMs

Comme le nom l'indique, les peptides antimicrobiens possèdent une large gamme d'activités. En plus de leurs activités antibactériennes, certains PAMs sont des antifongiques, des antiviraux, des anti-tumoraux et/ou des immunomodulateurs (Guryanova et Ovchinnikova, 2022; Mercer et O'Neil, 2020). Contrairement aux antibiotiques traditionnels qui ont une seule cible, les PAMs peuvent en avoir plusieurs (Rima *et al.*, 2021). Ils jouent ainsi un rôle à la fois direct et indirect dans la défense de l'organisme. Par exemple, hLF1-11, un peptide synthétique dérivé de la protéine humaine lactoferrine, a été développé pour traiter des infections graves qui pourraient avoir lieu lors de la transplantation de la moelle osseuse

(van der Velden *et al.*, 2009). Il a été montré que non seulement ce peptide a des activités antifongique et antibactérienne contre les souches résistantes (Lupetti *et al.*, 2007; Nibbering *et al.*, 2001), il peut également moduler le système immunitaire en favorisant la différenciation des monocytes en macrophages (van der Does Anne *et al.*, 2010). Cette modulation renforce la défense contre les pathogènes.

Toutefois, ce n'est pas tous les PAMs qui ont une activité antimicrobienne aussi large que hLF1-11. Selon la base de donnée APD3, environ 60% des PAMs sont des antibactériens, tandis que les 40% restants sont des antifongiques, des antiviraux et des anti-tumoraux (Huan *et al.*, 2020). Cette proportion souligne l'importance sur la lutte contre les infections bactériennes. Donc, dans ce mémoire, le mécanisme d'action antibactérien des PAMs sera discuté ci-bas. Ces derniers peuvent attaquer les bactéries de deux manières principales : soit par la lyse membranaire, soit en attaquant des cibles intracellulaires (Dilawari *et al.*, 2025).

1.2.2.1 La lyse membranaire

Parmi les différents mécanismes d'action, la perturbation membranaire est la plus étudiée et la plus commune. Étant donné que la majorité des PAMs sont chargés positivement et ont une surface hydrophobe, leur interaction à la membrane bactérienne est principalement médiée par des interactions électrostatiques. Une fois que les PAMs sont liés à la membrane, ils peuvent perturber cette dernière de trois façons : la formation de pores en forme de tonneau, de pores toroïdaux et l'extraction des lipides membranaires de manière détergente (figure 1.6).

Les pores en forme de tonneau se forment lorsque les peptides longs, d'au moins 22 résidus, s'insèrent perpendiculairement et complètement dans le bicouche membranaire (Sato et Feix, 2006). Le côté hydrophobe des peptides interagit avec les queues lipidiques. Les peptides interagissent entre eux, formant ainsi des pores. Ces pores induisent peu de courbure membranaire puisque le cœur hydrophobe reste intact (Wimley, 2010b).

Contrairement aux pores en forme de tonneau, les pores toroidaux impliquent un réarrangement des lipides membranaires. L'insertion des peptides induit la fusion des couches externe et interne de la membrane, créant ainsi des pores couvertes des têtes polaires des phospholipides (Schmidt et Wong, 2013). Les peptides interagissent très faiblement entre eux puisqu'ils s'enfouissent à l'intérieur de la bicouche. Les pores toroidaux ne requièrent pas de longs peptides. Des courts peptides peuvent former ces pores puisque l'organisation des lipides est perturbée. Ce genre de pores peut causer une grande courbure de membrane et cette courbure est souvent accompagnée de l'augmentation de l'hydratation membranaire (Li *et al.*, 2017). Les deux pores sont souvent des canaux ioniques et/ou des aquaporines qui peuvent causer un gonflement cellulaire (Sato et Feix, 2006). Quant à l'extraction des lipides de manière détergente, les peptides s'adsorbent parallèlement sur la membrane et s'accumulent à sa surface, formant un tapis jusqu'à atteindre une concentration critique permettant l'extraction de la membrane. L'accumulation des PAMs à la surface membranaire augmente la pression latérale entre les phospholipides. En effet, les PAMs s'insèrent superficiellement entre les têtes polaires des phospholipides, ce qui élargit la surface membranaire et rapproche les queues hydrophobes des phospholipides. À mesure que la pression latérale augmente, les interactions lipidiques sont perturbées et la membrane devient plus fluide.

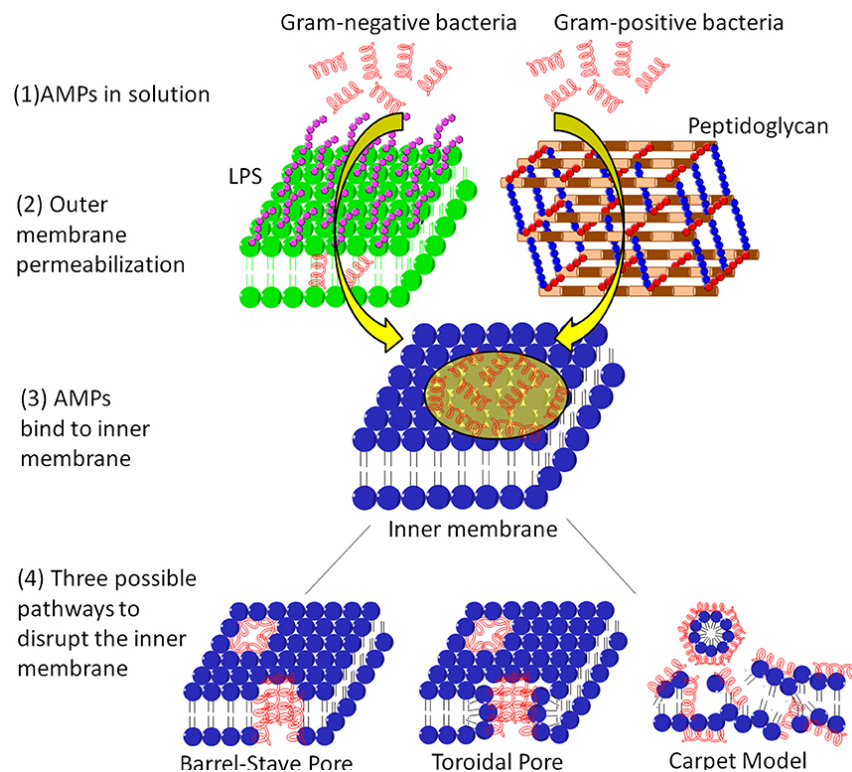


Figure 1.6 Représentation du mécanisme d'action des PAMs dans la lyse de la membrane plasmique bactérienne. Figure adaptée de (Li *et al.*, 2017).

La fragmentation des lipides survient lorsque la membrane perd son intégrité. Les lipides fragmentés s'assemblent alors en micelles (Huang, 2006; Huang, 2000).

1.2.2.2 Les cibles intracellulaires

Certains PAMs peuvent exercer des activités antibactériennes sans perturber la membrane. En effet, ils ciblent les composants internes des bactéries tels que les enzymes, l'ADN, l'ARN, les ribosomes et les chaperones (Le *et al.*, 2017a). Ces peptides, évidemment, doivent traverser la membrane bactérienne afin d'atteindre leur cible. Pour ce faire, sans perturber la membrane, trois voies existent: diffusion transmembranaire, formation de pores toroidaux et utilisation de transporteurs de protéines (Cardoso *et al.*, 2019). Par exemple, comme la figure 1.7 l'illustre, l'indolicidine est un peptide linéaire produit par les neutrophiles bovins qui inhibe la synthèse de l'ADN, soit en interagissant directement à l'ADN, soit en inhibant l'enzyme ADN topoisomérase I (Le *et al.*, 2017a). Quant au buforin II, un peptide dérivé de buforin I, venant du crapaud asiatique *Bufo gargarizans*, celui-ci forme des pores toroidaux instables afin de se glisser à l'intérieur de la membrane (Kobayashi *et al.*, 2004). Une fois entré, le peptide se lie aux ADNs et ARNs pour empêcher la synthèse des protéines. Il est par ailleurs important de noter que tous les PAMs ne sont pas des peptides de pénétration cellulaire (CPPs), et inversement. Bien que la majorité des CPPs présentent les propriétés semblables aux PAMs, telles que l'amphipathicité, la charge net positive, le faible nombre de résidus et la capacité de perturber la membrane, ces deux classes de peptides ont de fonctions différentes. Les CPPs servent à transporter diverses molécules (protéines, ADN, ARN, liposomes, petites molécules) de l'extérieur à l'intérieur des cellules eucaryotes et procaryotes, sans induire de toxicité. Ils sont très utiles pour le transport des antibiotiques à l'intérieur des cellules (Buccini *et al.*, 2021; Neundorff, 2019). Par exemple, le peptide TATp 45-47, dérivé de l'activateur de transcription du virus de l'immunodéficience humaine du type 1 (VIH-1) (Koren *et al.*, 2011), ne présente pas de toxicité envers les cellules eucaryotes ou bactériennes lorsqu'il est utilisé seul (Gomarasca *et al.*, 2017; Huang et Lee, 2018). La gentamicine, en tant que PAM, n'a pas la capacité de pénétrer dans les cellules eucaryotes. Lorsque le peptide TAT est conjugué à la gentamicine, le peptide conjugué est capable d'éliminer les bactéries intracellulaires (Gomarasca *et al.*, 2017). Pour les PAMs qui sont aussi les CPPs, ils pénètrent facilement dans les cellules et atteignent leur cible intracellulaire. Des exemples sont présentés dans la figure 1.7.

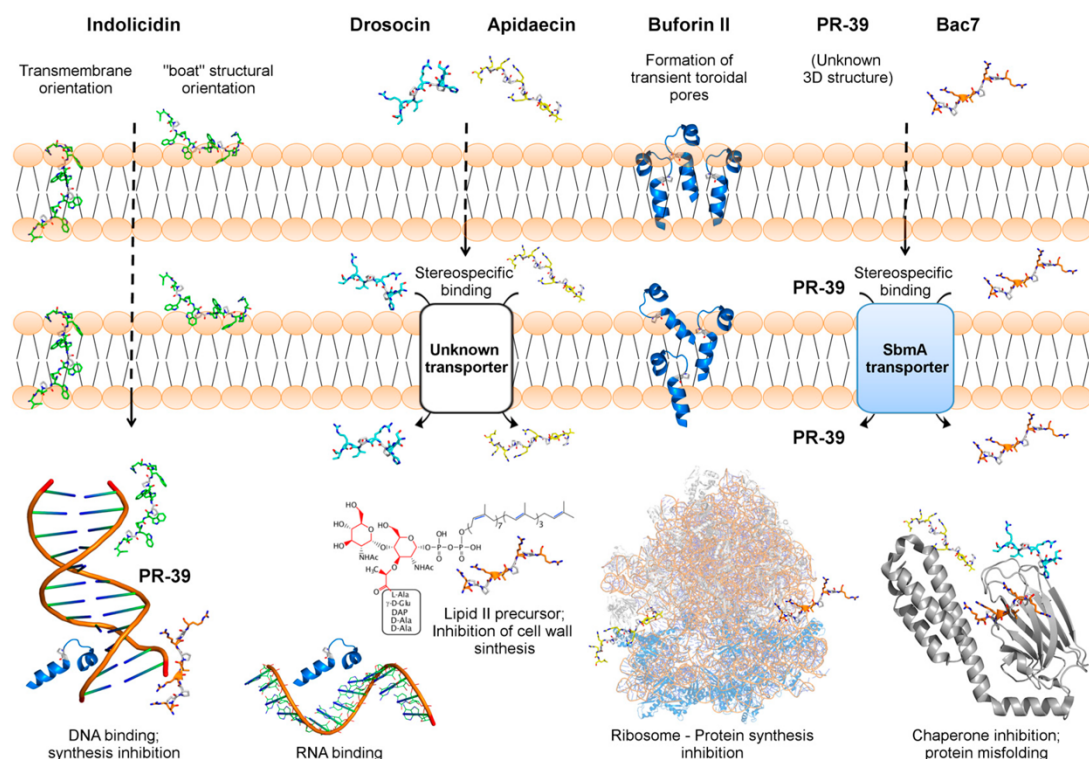


Figure 1.7 Représentation des mécanismes de translocation des PAMs sans perturbation membranaire. Figure adaptée de (Cardoso *et al.*, 2019).

1.3 Les fibres amyloïdes

1.3.1 Les fibres amyloïdes pathogéniques

Les fibres amyloïdes sont souvent associées aux maladies dégénératives telles que la maladie d'Alzheimer, le Parkinson et le diabète. Cette association est due au phénomène de la perte des cellules en présence de dépôts tissulaires de plaques des fibres amyloïdes aux tissus. Les fibres amyloïdes sont formées des protéines et des peptides qui sont initialement solubles et s'assemblent pour former des fibres insolubles. Ainsi, elles sont des agrégats de protéines et de peptides mal repliés. Chaque maladie dégénérative est liée à une protéine ou un peptide spécifique. Par exemple, le peptide amyloid- β ($A\beta$) est associé à la maladie d'Alzheimer puisque les patients atteints de la maladie ont des plaques de fibres amyloïdes (Thal *et al.*, 2002). Le peptide $A\beta$ pourrait jouer plusieurs fonctions physiologiques, notamment moduler l'efficacité des synapses et favoriser la production de nouvelles fibres nerveuses (Bishop et Robinson, 2004). Cependant, les fibres amyloïdes formées par $A\beta$ induisent une toxicité aux cellules, perturbent ainsi les fonctions cognitives, telles que la mémoire et l'humeur. Une autre protéine qui est associée à une autre maladie neurodégénérative est la protéine α -synucléine de la maladie de Parkinson. Cette protéine

facilite la libération des neurotransmetteurs (Calabresi *et al.*, 2023). Lorsqu'elle s'aggrave, l'homéostasie de calcium est perturbée et mène ainsi au développement graduel de la maladie (Zaichick *et al.*, 2017). Il y a aussi les maladies associées aux fibres amyloïdes qui ne sont pas neurodégénératives, telles que le diabète de type II et l'amyloïdose à chaînes légères. Le peptide islet amyloid polypeptide (IAPP) est une hormone peptidique dont le rôle est d'assister l'insuline dans la régulation glycémique. Son aggrégation est associée au diabète du type II puisque le dépôt amyloïde de l'IAPP est observé chez plus de 95% des patients atteints de la maladie (Asthana *et al.*, 2018). Quant à l'amyloïdose à chaînes légères (AL), elle est une maladie rare causée par une production excessive des chaînes légères des anticorps. Les chaînes légères peuvent s'aggréger et former des fibres amyloïdes. C'est une maladie systémique qui affecte plusieurs organes, notamment les reins et le cœur, qui sont les organes les plus touchés (Feitosa *et al.*, 2022). D'autres maladies associées aux fibres amyloïdes sont présentées dans le tableau 1.1.

Tableau 1.1 Exemples de fibres amyloïdes associées aux maladies.

Protéine/Peptide	Maladie associée	Références
Amyloid- β (A β)	Alzheimer	(Gouras <i>et al.</i>, 2015)
Tau	- Alzheimer - Démence fronto-temporale - Steele-Richardson-Olszewski - Dégénérescence corticobasale	(Chen et Yu, 2023) (Goedert <i>et al.</i>, 2021) (Martínez-Maldonado <i>et al.</i>, 2021) (Forman <i>et al.</i>, 2002)
Transthyrétine	Amyloidose à transthyrétine	(Ruberg <i>et al.</i>, 2019)
Sérum Amyloid A	Amyloidose secondaire	(Thorne <i>et al.</i>, 2022)
IAPP	Diabète du type II	(Akter <i>et al.</i>, 2016a)
Huntingtine	Huntington	(Mario Isas <i>et al.</i>, 2021)
α -Synucléine	Parkinson	(Calabresi <i>et al.</i>, 2023)
Chaînes légères des anticorps	Amyloidose à chaînes légères	(Baker, 2022)

1.3.2 Les fibres amyloïdes fonctionnelles

Malgré la mauvaise réputation des fibres amyloïdes, il existe des protéines qui forment des fibres amyloïdes sans que le corps en subisse une toxicité. Ces fibres amyloïdes sont connues comme des amyloïdes fonctionnels. Chez l'humain, les amyloïdes fonctionnels participent à plusieurs processus biologiques, notamment la production de mélanine, la maintenance de la mémoire de longue durée, le contrôle de qualité des spermatozoïdes et l'entreposage des hormones. Par exemple, la protéine PMEL17 participe à la production de mélanine sur la peau. La mélanine est un pigment polymérique qui donne la couleur aux yeux, aux cheveux et à la peau. Son rôle est de protéger les cellules contre les rayons

ultraviolets en les absorbant (Brenner et Hearing, 2008). La synthèse de la mélanine exige d'avoir une matrice de fibres amyloïdes des protéines PMEL17 afin de polymériser et de condenser les produits intermédiaires de mélanine (Bissig *et al.*, 2016). Un autre exemple est la protéine CPEB3. La protéine CPEB3 est impliquée dans la maintenance de la mémoire à long terme en régulant la synthèse des protéines dans les neurones. Lorsqu'il y a une excitation neuronale, les protéines CPEB3, ayant un domaine liant aux ARNm, s'aggrègent pour devenir une matrice de la traduction locale des ARNm afin de produire des récepteurs, notamment les récepteurs activés par le glutamate, l'acide α -amino-3-hydroxy-5-méthyl-4-isoxazolepropionique (AMPA) et les protéines actines qui sont nécessaires à la croissance des épines dendritiques (Gu *et al.*, 2022). Quant au sperme humain, les deux protéines, la phosphatase acide prostatique (PAP) et la séménogéline (SEM), ont la capacité de former les fibres amyloïdes dans le but d'éliminer les spermatozoïdes inefficaces. En effet, les spermatozoïdes adhèrent aux fibres amyloïdes et celles-ci facilitent la phagocytose des spermatozoïdes par les macrophages et les neutrophiles (Easterhoff *et al.*, 2013; Roan *et al.*, 2017). Par ailleurs, certaines hormones peptidiques, notamment la prolactine et l'hormone de croissance, sont stockées à hautes concentrations sous forme d'amyloïdes dans les granules de sécrétion et sont libérées en tant que monomères (Jacob *et al.*, 2016; Maji *et al.*, 2009). Il est important de savoir que l'aggrégation des protéines et des hormones peptidiques mentionnées ci-haut est finement régulée. C'est-à-dire qu'il faut la présence de certains facteurs tels que les glycosaminoglycanes (Chatterjee *et al.*, 2022), du zinc (Jacob *et al.*, 2016), de l'ubiquitine (Qu *et al.*, 2020) et/ou même d'un pH extrême (Berson *et al.*, 2001) pour induire l'auto-assemblage. Cependant, une fois que la condition est changée, par exemple, les fibres de CPEB3 sont SUMOylées et les monomères sont libérés.

Certaines bactéries de Gram-négative, *Escherichia coli* (Pratt et Kolter, 1998) et *Pseudomonas aeruginosa* (O'Toole et Kolter, 1998), produisent des fibres amyloïdes de la protéine Curli, un des composants principaux du biofilm. Le biofilm est une communauté bactérienne où les bactéries de plusieurs genres vivent ensemble et se réfugient contre divers agents antibactériens (Watnick et Kolter, 2000). Les fibres amyloïdes de la protéine Curli sont composées des sous-unités CsgA et CsgB (Evans et Chapman, 2014). Ces fibres, avec d'autres éléments comme l'ADN extracellulaire, les adhésines et les exopolysaccharides, renforcent la robustesse du biofilm et permettent la résistance aux stress environnementaux et aux antibiotiques. De plus, ces fibres amyloïdes permettent aux bactéries de s'attacher aux surfaces, comme celle des cellules de l'hôte et les surfaces abiotiques (Barnhart et Chapman, 2006). Le tableau 1.2 ci-dessous présente également d'autres types de fibres amyloïdes fonctionnelles.

Tableau 1.2 Exemples des fibres fonctionnelles

Protéine Peptide	Fonctions	Espèce	Référence
PMEL17	Support pour la formation de la mélanine	Humain	(Bissig <i>et al.</i> , 2016)
CPEB3	Maintenance de la mémoire à longue durée	Humain	(Gu <i>et al.</i> , 2022)
PAP & SEM	Contrôle de la qualité des spermatozoïdes	Humain	(Easterhoff <i>et al.</i> , 2013) (Roan <i>et al.</i> , 2017)
Curli	Adhésion Formation du biofilm	<i>Escherichia coli</i> <i>Salmonella spp.</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	(Barnhart et Chapman, 2006)

1.3.3 Le mécanisme de formations des fibres amyloïdes

Le processus de formation des fibres amyloïdes de l'IAPP est souvent décrit comme une polymérisation nucléée (Xue *et al.*, 2008). Le processus est composé de trois phases : la phase de latence, la phase d'élongation et la phase de saturation (figure 1.7). Durant la phase de latence qui est l'étape limitante, la protéine dénaturée ou le peptide non replié doit subir des réarrangements conformationnels qui permettent de former des oligomères compétents (noyaux). Les noyaux sont composés entre 7 et 14 monomères et leur formation est une étape lente car elle est thermodynamiquement défavorable (Ghosh *et al.*, 2016; Gillam et MacPhee, 2013). Elle requiert une grande énergie dû aux interactions insatisfaisantes et aux surfaces hydrophobes exposées lorsque les monomères se regroupent ensemble (l'enthalpie augmente et l'entropie diminue), donc il arrive très souvent que les oligomères incompetents se désagrègent. Une fois que les noyaux sont créés, donc des interactions satisfaisantes et une conformation acceptable, l'addition des monomères aux noyaux se fait rapidement durant la phase d'élongation, et elle continue jusqu'à la formation des fibres amyloïdes matures (Jarrett et Lansbury, 1993). Cette étape est spontanée et thermodynamiquement favorable. Il est important de noter que la structure des noyaux compétents demeure inconnue. En outre, il y a aussi une nucléation secondaire qui a lieu lorsque les fibres sont fragmentées en fibres courtes dû au cisaillement et à l'agitation (Knowles *et al.*, 2009). Ces fibres

courtes servent en tant que noyaux et les monomères contournent la formation des oligomères pour s'ajouter directement aux fibres (Chatani et Yamamoto, 2018).

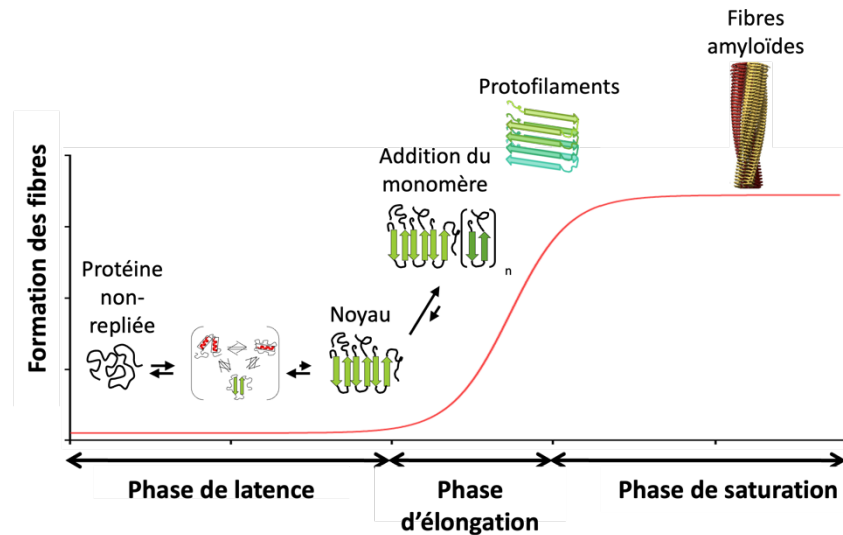


Figure 1.8 La cinétique de formation des fibres amyloïdes du modèle de la polymérisation nucléée par la fluorescence ThT.

La cinétique de l'auto-assemblage des peptides amyloïdogéniques en fonction du temps est souvent suivie par fluorescence de la thioflavin-T (ThT). La ThT est un fluorophore dont l'excitation est à 450 nm et l'émission à 482 nm. En effet, la fluorescence de ThT est attribuée à l'immobilité rotationnelle de la liaison C-C entre les groupements benzothiazole et aniline lorsque le fluorophore se lie aux fibres (Xue *et al.*, 2017). En d'autres mots, quand la molécule de ThT libre en solution est excitée, elle dégage l'énergie en tournant la liaison C-C. Quand la molécule est piégée par la structure quaternaire en feuillets- β -croisés des fibres, la rotation ne peut pas avoir lieu et l'énergie reçue doit être dégagee sous une autre forme, qui est donc la fluorescence. Le graphique de la cinétique ressemble à la figure 1.7. La courbe sigmoïdale montre les trois phases distinctes. La phase de latence, où il n'y a pas de fibres, n'a pas de signal de ThT. Une fois que les noyaux se forment et que les fibres se forment, le signal de ThT augmente jusqu'à ce qu'il atteigne un plateau où l'équilibre entre les fibres et les monomères a lieu (Rice *et al.*, 2021).

1.4 Islet Amyloid Polypeptide (IAPP)

1.4.1 La découverte et la phylogénie de l'IAPP

L'IAPP, également connu sous le nom nord-américain d'amyline, a été observé pour la première fois en 1901, sous forme de dépôts d'agréats dans les îlots de Langerhans de pancréas chez les patients atteints

du diabète du type II (Opie, 1901). Le dépôt extracellulaire étant des fibres amyloïdes a été confirmé en 1961 (Ehrlich et Ratner, 1961). Il a fallu attendre deux décennies plus tard, en 1987, pour caractériser la séquence primaire du composant principal des dépôts dans les îlots (Cooper *et al.*, 1987; Westermark *et al.*, 1987). Le composant principal, qui est l'IAPP, est un peptide de 37 résidus co-sécrété avec l'insuline par les cellules β -pancréatiques. L'IAPP est considéré comme une hormone puisqu'il participe à plusieurs fonctions métaboliques importantes, notamment la régulation glycémique et la satiété (Olsson *et al.*, 2012).

L'amyline est présente chez la majorité des mammifères (Fortin et Benoit-Biancamano, 2015). Visiblement, il existe des différences entre les séquences de différentes espèces. Toutefois, comme la figure 1.8 le montre, la région N-terminale 1-7, la région C-terminale 31-37 et le pont disulfure entre Cys2-Cys7 sont hautement conservés chez les animaux. Il a été suggéré que les régions N- et C-terminales permettent l'interaction du peptide avec les récepteurs de l'amyline. Le segment C-terminal aide à bien positionner le peptide aux récepteurs et par la suite, le segment N-terminal cyclisé active les récepteurs (Bower et Hay, 2016). Sans le N-terminal cyclisé, l'affinité des peptides pour les récepteurs diminue (Roberts *et al.*, 1989). Concernant les différences entre les espèces, les résidus de la région centrale 20-29 sont les moins conservés. Cette région est souvent considérée comme la séquence amyloïdogénique étant donné que l'amyline du rat et de la souris ne forme pas de fibres amyloïdes et que la région centrale pour le rat et la souris, comparée à celle de l'humain, contient beaucoup de prolines (Pro25, Pro28 et Pro29). L'acide aminé proline est reconnu pour rompre les structures secondaires. Il a été montré que l'incorporation de ces prolines à la séquence de l'IAPP ralentit l'aggrégation (da Silva *et al.*, 2016). De plus, la séquence isolée 20-29, qui est très hydrophobe, est capable de former des fibres (Glennier *et al.*, 1988; Westermark *et al.*, 1990). Néanmoins, il y a aussi d'autres fragments de la séquence chez l'humain qui ont la capacité de former des fibres amyloïdes, notamment les segments 12-17 et 30-37 (Fortier *et al.*, 2022a; Nilsson et Raleigh, 1999). Il est aussi intéressant de savoir que la séquence primaire de l'IAPP partage environ 40% de similarité avec celle du peptide relié au gène de la calcitonine (CGRP), qui est un neurotransmetteur associé à la migraine (Rees *et al.*, 2021; Wattiez *et al.*, 2020).

	1	10	20	30	37
Human:	KCNTATCAT	QRLANFLVHS	SNNFGAILSS	TNVGSNTY	
Monkey:	KCNTATCAT	QRLANFLVRS	SNNFGTILSS	TNVGSDTY	
Macaque:	KCNTATCAT	QRLANFLVRS	SNNFGTILSS	TNVGSDTY	
Baboon:	ICNTATCAT	QRLANFLVRS	SNNFGTILSS	TNVGSNTY	
Porcine:	KCNMATCAT	QHLANFLDRS	RNNLGTIFSP	TKVGSNTY	
Cow:	KCGTATCET	QRLANFLAPS	SNKLGAIFSP	TKMGsNTY	
Cat:	KCNTATCAT	QRLANFLIRS	SNNLGAILSP	TNVGSNTY	
Dog:	KCNTATCAT	QRLANFLVRT	SNNLGAILSP	TNVGSNTY	
Rat:	KCNTATCAT	QRLANFLVRS	SNNLGPVLPP	TNVGSNTY	
Mouse:	KCNTATCAT	QRLANFLVRS	SNNLGPVLPP	TNVGSNTY	
Guinea Pig:	KCNTATCAT	QRLTNFLVRS	SHNLGAALPP	TDVGSNTY	
Hamster:	KCNTATCAT	QRLANFLVHS	NNNLGPVLSP	TNVGSNTY	
Deagu:	KCNTATCAT	QRLTNFLVRS	SHNLGAALPP	TKVGSNTY	
Ferret:	KCNTATCVT	QRLANFLVRS	SNNLGAILLP	TDVGSNTY	

Figure 1.9 Séquences primaires de l'IAPP des différents animaux mammifères. Les résidus différents de la séquence de l'humain sont indiqués en bleu et soulignés. Toutes les séquences présentent un pont disulfure entre Cys2 et Cys7 ainsi qu'un C-terminal amidé. Figure adaptée de (Cao *et al.*, 2013c).

1.4.2 Les structures secondaires de l'IAPP

L'IAPP est un peptide intrinsèquement désordonné (IDP), c'est-à-dire qu'il n'a pas une structure stable et bien définie en milieu aqueux. Pour déterminer la structure secondaire de l'IAPP lorsqu'il est dans un environnement *in vivo*, l'utilisation des membranes modèles, des détergents ainsi que de solutions alcooliques contenant du trifluoroéthanol (TFE) ou de l'hexafluoroisopropanol (HFIP) est souvent appliquée. Ces derniers sont connus pour l'induction de la structure hélicoïdale des peptides prédisposés à former des hélice- α . Lorsque l'amyline est solubilisée dans ces environnements, elle adopte la conformation hélicoïdale sans difficulté et visible par la spectroscopie de dichroïsme circulaire (Babych *et al.*, 2024; Caillon *et al.*, 2013; Fortier *et al.*, 2022a; Higham *et al.*, 2000). Cependant, cette technique ne permet pas identifier quels fragments de l'IAPP font partie de la structure hélicoïdale.

Les études par résonance magnétique nucléaire (RMN) de l'IAPP dans un environnement mimant la membranec cellulaire démontrent une diversité d'hélices- α . En présence de micelles chargées négativement de laurylsulfate de sodium (SDS) à pH 4.2 et 7.3, l'amyline adopte une conformation hélicoïdale couvrant les résidus 5 à 27, avec une courbure entre les résidus 18 et 22. La région entre les résidus 1 et 4 forme une structure en épingle à cheveux (*hairpin*) en raison du pont disulfure (Cys2 – Cys7). Le C-terminal (30 à 37) reste en conformation aléatoire à pH 4.2 et adopte une courte hélice 3_{10} à pH 7.3 (Nanga *et al.*, 2011; Patil *et al.*, 2009a). Cependant, il faut faire attention à l'interprétation des résultats obtenus avec le SDS car cela peut mener à des conclusions trompeuses sur la structure native du peptide.

Le détergent peut perturber les interactions intramoléculaires qui pourraient favoriser une conformation native autre que l'hélice- α , et ainsi peut favoriser artificiellement la conformation hélicoïdale (Watkins *et al.*, 2012).

En présence de micelles zwitterioniques de dodécylphosphocholine (DPC), l'amyline du rat et de l'humain adopte une conformation hélicoïdale qui s'étend des résidus 5 à 17. De plus, une étude par résonance paramagnétique électronique (EPR) a révélé que la structure hélicoïdale couvre le résidu 9 au résidu 20 en présence des LUVs POPS/POPC (8/2) (Apostolidou *et al.*, 2008). Cela suggère un rôle important de l'hélice- α de la région N-terminale. En effet, l'amyline de l'humain et celle du rat réduites, qui n'ont pas de pont disulfure, diminuent leur capacité d'adopter une structure hélicoïdale (Rodriguez Camargo *et al.*, 2017; Williamson *et al.*, 2009). De plus, la macrocyclisation de l'IAPP entre les résidus 9 et 13, qui contraint le peptide en hélice- α , permet d'activer les récepteurs de l'amyline (Babych *et al.*, 2024). En tenant compte aussi du fait que le manque du pont disulfure diminue son affinité aux récepteurs, cela met l'accent sur la nécessité du repliement en l'hélice- α sur l'activité biologique de l'IAPP.

D'autres études, telles que la spectrométrie de masse à mobilité unique (IMS-MS) et la dynamique moléculaire, ont suggéré que la conformation épingle en cheveux (β -hairpin) affiche une tendance à l'aggrégation. La conformation β -hairpin est composée de deux feuillets- β des résidus 9 à 17 et 24 à 33, liés ensemble par une boucle des résidus 18 à 23 (Dupuis *et al.*, 2009; Wu et Shea, 2013). Également, une autre étude de dynamique moléculaire sur la thermodynamique des structures secondaires de l'IAPP a prédit que le peptide peut adopter trois conformations en solution : hélice- α , aléatoire et β -hairpin. Cette dernière est majoritaire et thermodynamiquement plus favorable que les deux autres. L'étude a conclu que la structure β -hairpin est la conformation 'on-pathway' pour la formation des fibres, c'est-à-dire la conformation qui facilite la fibrillogénèse (Reddy *et al.*, 2010). Il faut savoir que toutes les structures secondaires mentionnées ici restent théoriques, car il est difficile de déterminer celles qui favorisent l'aggrégation vu que le peptide a une grande flexibilité de conformations et s'auto-assemble rapidement en fibres amyloïdes qui sont les produits finaux.

1.4.3 Les structures quaternaires de l'IAPP

La structure mésoscopique et moléculaire des fibres amyloïdes de l'IAPP a été étudiée par plusieurs techniques, notamment la RMN, la cristallographie de rayons X, la cryomicroscopie électronique (Cryo-

EM), la microscopie électronique en transmission (TEM) et la microscopie à force atomique (AFM). Les fibres amyloïdes sont des longs filaments non ramifiés qui peuvent avoir une longueur de 0.5 à 10 μm et un diamètre de 5 à 15 nm (Goldsbury *et al.*, 1997; Schleegeer *et al.*, 2013). Chaque fibre est composée de deux à huit protofilaments qui s'assemblent latéralement ou s'entourent les uns les autres (Luca *et al.*, 2007). Chaque protofilament a un diamètre de 4.5 à 5.5 nm et est constitué de feuillets- β empilés de façon alignée et parallèle (in-register parallel) (Kajava *et al.*, 2005). Autrement dit, cette structure, que l'on appelle le β -croisé, a les feuillets β perpendiculaires à l'axe longitudinal des fibres. Entre les brins, la distance est de 4.7 Å et celle entre les feuillets est d'environ 10 Å (Sunde *et al.*, 1997).

Une fois assemblées, les fibres amyloïdes peuvent se présenter sous différentes formes, notamment en S et en U. La forme en S est composée de deux sous-unités d'amyline dont chacune a trois brins β (14-20, 26-32 et 35-37). Cette forme est stabilisée par les interactions polaires et hydrophobes. La région centrale des fibres est constituée des résidus hydrophobes du segment 23-27. De plus, les chaînes peptidiques des résidus hydrophobes Phe23 et Ala25 établissent des liaisons hydrophobes avec celles des sous-unités adjacentes. Quant à la surface des fibres, elle est majoritairement occupée par des résidus polaires (Röder *et al.*, 2020). Pour ce qui est de la forme en U, celle-ci est également composée de deux sous-unités dont chacune ayant quatre brins- β courts (15-18, 21-23, 28-31 et 35-36). Cette structure est stabilisée par les interactions hydrophobes, où la région centrale hydrophobe est protégée par les résidus polaires en surface (Gallardo *et al.*, 2020).

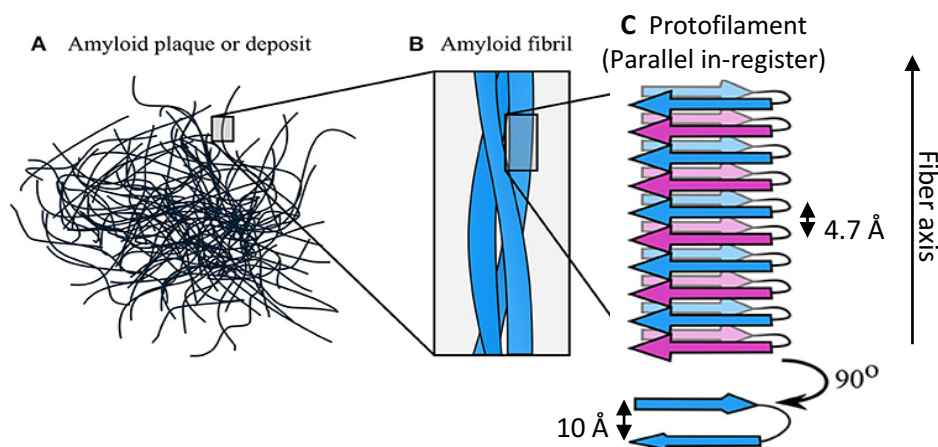


Figure 1.10 L'organisation des fibres amyloïdes : de la structure quaternaire à la structure secondaire. Figure adaptée de (Taylor et Staniforth, 2022).

1.4.4 Les rôles physiologiques de l'IAPP

Diverses fonctions biologiques de l'IAPP ont été rapportées, telles que l'homéostasie glucidique, la vasodilatation de vaisseaux sanguins, le développement de l'os, la lipolyse et la réabsorption de l'eau au niveau des reins. Cependant, les quatre dernières fonctions sont moins bien caractérisées. La régulation glycémique a été beaucoup plus étudiée (figure 1.10) (Hay *et al.*, 2015).

La sécrétion de l'IAPP a lieu en même temps que l'insuline durant l'ingestion alimentaire à un ratio molaire de (1 IAPP:7 insuline) (Hanabusa *et al.*, 1992). Et la quantité de la sécrétion est proportionnelle à la quantité d'absorption de glucose (Butler *et al.*, 1990; Moore et Cooper, 1991). Chez les humains en santé, la concentration plasmatique de l'amyline peut monter à 2-10 picomolaires (pM) lors d'un jeun et entre 8 et 20 pM postprandial. Chez les personnes diabétiques du type II, la concentration à jeun peut être élevée, soit de 40 pM et à 90 pM postprandial (Butler *et al.*, 1990; Hanabusa *et al.*, 1992).

Il est connu que l'insuline est une hormone peptidique qui permet l'absorption du glucose par les cellules des tissus adipeux, musculaires, cardiaques et du système reproductif chez les femmes (Purcell *et al.*, 2012; Rahman *et al.*, 2021). L'amyline aide l'insuline à prévenir l'hyperglycémie postprandiale via plusieurs manières : le ralentissement de la vidange gastrique, l'induction de la sensation de satiété et l'inhibition de la sécrétion de glucagon (Young *et al.*, 1996). Le ralentissement de la vidange gastrique est un phénomène caractérisé par la rétention de la nourriture dans l'estomac. Le passage du chyme, la nourriture partiellement digérée, qui devrait se diriger vers le duodénum est alors ralenti. Par conséquent, cela favorise l'absorption des nutriments. Le mécanisme d'action de l'IAPP sur la vidange gastrique reste incertain puisqu'il manque des études qui testent directement les voies neuronales potentielles. Cependant, il y a une théorie, fondée à partir de résultats indirects et des observations chez les autres hormones, qui pourrait expliquer la modulation de l'amyline : l'amyline circule dans le sang pour se rendre à l'*area postrema* (AP), une région encéphalique située dans le bulbe rachidien. Cette région n'a pas la barrière hémato-encéphalique et a un grand nombre de récepteurs d'amyline, environ 90% des neurones dans l'*area postrema* ont des récepteurs d'amyline (Ferguson, 1991; Riediger *et al.*, 2002; Sexton *et al.*, 1994). L'IAPP active les neurones de l'AP qui libèrent les neurotransmetteurs excitateurs du glutamate (Fukuda *et al.*, 2013). Ces glutamates se rendent au noyau du faisceau solitaire (NTS) pour activer les neurones GABAnergiques. Ceux derniers vont inhiber le noyau moteur dorsal du nerf vague (DMV) qui donne normalement le signal excitatoire à l'estomac à travers le nerf vague efférent. Ainsi, l'inhibition du

DMV ralentit la vidange gastrique (Goyal *et al.*, 2019; Travagli *et al.*, 2006). Des études ont montré que lorsqu'on enlève chirurgicalement le nerf vague efférent ou l'*area postrema* des rats, l'amyline n'est plus active pour le ralentissement de vidange gastrique (Wickbom *et al.*, 2008; Young, 2005). En outre, il y a aussi d'autres hormones qui peuvent inhiber la vidange gastrique, tels que le glucagon-like peptide-1 (GLP-1) et la cholécystokinine (CCK) (Jalleh *et al.*, 2025; Young *et al.*, 1996). Cependant, l'amyline est la plus puissante parmi les trois hormones pour ralentir la vidange gastrique.

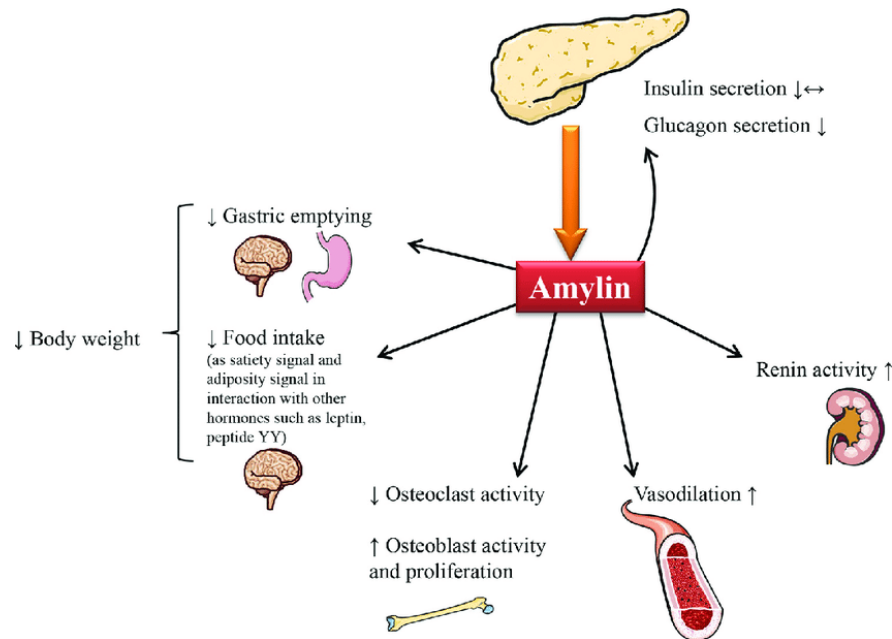


Figure 1.11 Rôles physiologiques de l'IAPP chez l'humain. Figure adaptée de (Press *et al.*, 2018).

Afin d'éviter l'abaissement de la réduction de glucose de la période postprandiale, il faut inhiber la sécrétion de l'hormone qui a un effet opposé de l'insuline, le glucagon. Celui-ci est une hormone peptidique sécrétée par les cellules α -pancréatiques pour garder la glycémie au niveau normal à jeun et éviter l'hypoglycémie. Il agit sur le foie pour convertir le glycogène ou le lactate en glucose et le libérer dans le sang. Chez les patients diabétiques du type II, la concentration du glucagon est plus élevée que les personnes saines (Menge *et al.*, 2011). L'amyline inhibe la sécrétion du glucagon (Silvestre *et al.*, 2001). Une étude a démontré que lorsque l'IAPP est administré chez les rats à une concentration de 18 pM, l'hormone peut diminuer la concentration du glucagon jusqu'à 62% (Gedulin *et al.*, 1997). De plus, cette inhibition est extrinsèque du pancréas. C'est-à-dire, lorsque le pancréas est prélevé et conservé hors du corps de rat tout en étant perfusé avec un liquide glucagonotrope avec l'amyline, l'IAPP n'a aucun effet sur la réduction du glucagon produit par le pancréas. L'IAPP a seulement un effet quand le rat est intact

(Silvestre *et al.*, 2001). De plus, lorsque les chercheurs utilisent l'antagoniste de l'amyline, AC187, il y a une augmentation de la concentration du glucagon dans le sang (Gedulin *et al.*, 2006). Le mécanisme d'action de l'IAPP pour l'inhibition de la sécrétion du glucagon est présentement inconnu (Andersen et Holst, 2022).

Une fonction connue de l'IAPP est la satiété. Les chercheurs ont découvert que, lorsqu'ils injectent de l'IAPP supplémentaire dans l'hypothalamus des rats, ces derniers ne mangent pas leur quota de nourriture (Balasubramaniam *et al.*, 1991). Il est évident que le ralentissement de vidange gastrique peut donner indirectement la sensation de satiété étant donné que la nourriture reste plus longtemps dans l'estomac. L'IAPP agit surtout sur le cerveau pour promouvoir la sensation de satiété. Cette hormone active des neurones noradrénergiques de la région AP et NTS, qui activeront à leur tour les neurones du noyau parabranchial latéral (LPBN) (Boccia *et al.*, 2020; Potes *et al.*, 2010; Riediger *et al.*, 2004). Le LPBN est un groupe de noyaux qui transmettent les messages venant de la région AP à l'amygdale, l'hypothalamus et le thalamus (Arima *et al.*, 2019; Lutz, 2010). Il est connu que l'hypothalamus est la structure du cerveau qui régule la satiété et la faim (Barakat *et al.*, 2024). Lorsque les rats reçoivent la neurotoxine 6-OHDA, qui empêche la libération des noradrénalines dans les synapses du LPBN, l'amyline n'a pas d'effet sur la diminution de l'apport alimentaire après 1 heure, alors que les rats du contrôle ingèrent moins de nourriture. Chez les humains, les essais cliniques sur l'administration du pramlintide, un analogue de l'IAPP qui est approuvé par l'Agence américaine des produits alimentaires et médicamenteux (FDA) pour l'utilisation en tant que supplément de l'insulinothérapie, ont révélé que les patients diabétiques du type 2 mangent moins et perdent du poids avec le pramlintide à long terme (Chapman *et al.*, 2005; Hollander *et al.*, 2003; Ratner *et al.*, 2002).

1.4.5 La relation entre la toxicité et l'auto-assemblage de l'IAPP

Malgré ses rôles physiologiques, l'amyline est associée à la maladie de diabète de type II. Le diabète est une maladie multifactorielle et chronique liée à la concentration élevée en glucose dans le sang (hyperglycémie) due à la déficience de la régulation sanguine. Il y a deux types de diabète : Le premier est le diabète de type I ou dépendant de l'insuline (T1DM) qui est une maladie auto-immune lorsque les cellules β -pancréatiques sont détruites par le système immunitaire, entraînant une insuffisance de l'insuline sécrétée (Lernmark *et al.*, 1990). Le deuxième est le diabète de type II ou indépendant de l'insuline (T2DM). Celui-ci est caractérisé par la résistance des cellules à l'insuline, c'est-à-dire que les cellules ne répondent pas à la quantité normale d'insuline dû à la diminution des récepteurs disponibles à

la membrane plasmique et à l'atténuation de la phosphorylation des récepteurs membranaires, rendant ceux-ci inactifs (Blake *et al.*, 1987; Hall *et al.*, 2020). Puisqu'il n'y a pas de réponse, le corps réagit à la haute concentration glycémique en libérant de plus en plus d'insuline. Évidemment, les cellules peuvent s'adapter, mais seulement dans la limite de ce qu'elles sont capables de faire. Lorsque les cellules β -pancréatiques sont surchargées, elles finissent par mourir. Ainsi, le nombre des cellules et la quantité de l'insuline diminuent.

La première recherche sur la fibrillation pathogénique de l'IAPP a suggéré que ce sont les fibres matures qui sont toxiques pour les cellules pancréatiques. En effet, où il y a la présence des fibres, il y a une grande diminution des cellules vivantes (Lorenzo *et al.*, 1994). Quatre ans plus tard, une autre étude a réfuté l'hypothèse de Lorenzo en montrant que ce sont plutôt les intermédiaires pré-fibrillaires qui sont toxiques, au lieu des fibres matures (Janson *et al.*, 1999). Cette hypothèse a été confirmée plus tard par plusieurs études montrant que la perte de masse cellulaire est associée aux espèces oligomériques (Abedini *et al.*, 2018; Abedini *et al.*, 2016; Magzoub et Miranker, 2012). La toxicité de différentes phases de l'assemblage a été évaluée. L'assemblage en phase de latence est toxique envers les cellules, tandis que les monomères et les fibres matures sont non toxiques (Abedini *et al.*, 2018; Abedini *et al.*, 2016) (figure 1.11). De plus, de nombreuses études ont aussi montré que certains analogues amyloïdogéniques ne sont pas toxiques et certains non amyloïdogéniques sont toxiques. Pour ajouter plus de complexité, les analogues qui ont de la difficulté à adopter la structure en feuillet- β affichent une toxicité diminuée (Cao *et al.*, 2013b; Fortier *et al.*, 2022a; Magzoub et Miranker, 2012).

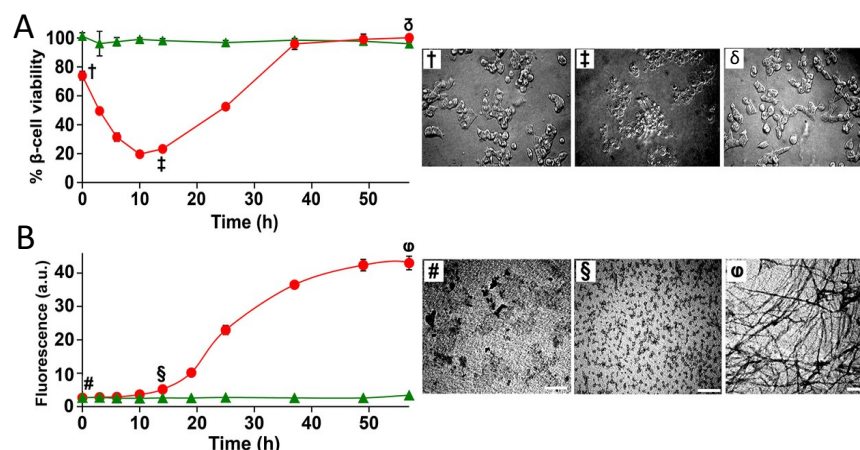


Figure 1.12 Toxicité de l'IAPP aux différentes phases de l'assemblage. A) Viabilité des cellules β -pancréatiques exposées à l'IAPP (rouge) et au rIAPP (vert) à différents temps de l'auto-assemblage. À droite, images de microscopie optique des cellules avec les symboles correspondant au temps. † : cellules vivantes incubées avec les monomères au temps zéro. ‡ : cellules en apoptose incubées avec les espèces intermédiaires de la phase latence. δ : cellules vivantes incubées avec les fibres matures. B) Cinétique de l'auto-assemblage de l'IAPP (rouge) et du rIAPP (vert), visualisée par la fluorescence de Thioflavin-T. À droite, les images de TEM de l'assemblage de l'IAPP avec les symboles correspondant au temps. # : IAPP au temps zéro. § : espèces intermédiaires de la phase latence. Φ : fibres matures de l'IAPP. Barre d'échelle : 200 nm. Figure adaptée de (Abedini *et al.*, 2016).

La recherche sur les mécanismes de toxicité de l'IAPP demeure encore aujourd'hui importante. Depuis des décennies, les scientifiques étudient sans cesse les mécanismes de toxicité, et malheureusement, il n'y a pas de mécanisme universellement accepté. Actuellement, il y a trois mécanismes proposés : la perturbation membranaire, l'induction du stress sur le réticulum endoplasmique (ER) et les dommages sur les mitochondries (Gurlo *et al.*, 2010b; Huang *et al.*, 2007; Kiriya et Nochi, 2018; Lim *et al.*, 2010; Mirzabekov *et al.*, 1996). Bien que plusieurs mécanismes aient été proposés pour expliquer la cytotoxicité de l'IAPP, l'hypothèse de la perturbation membranaire reste l'une des plus fréquemment citée et explorée expérimentalement. Ce mécanisme suppose que les espèces oligomériques de l'IAPP interagissent avec les membranes plasmiques et les perturbent, compromettant ainsi l'intégrité des membranes et contribuant à la mort des cellules β -pancréatiques. Plus en détail, l'amyline monomérique aléatoire adopte une structure hélicoïdale en présence des membranes lipidiques. Le peptide IAPP interagit avec les lipides anioniques des membranes et cela devient un support de l'aggrégation. L'augmentation de la concentration locale des peptides promeut la formation de noyaux compétents. Ces derniers déclenchent l'auto-assemblage sur les membranes, résultant l'amincissement et la fragmentation membranaire (figure 1.13A). De plus, les espèces oligomériques peuvent former des pores dans la membrane (figure 1.13B) et

arracher les lipides des membranes (detergent-like) (figure 1.13C) (Mirzabekov *et al.*, 1996; Sciacca *et al.*, 2021). Ces trois manières peuvent avoir lieu en même temps et indépendamment de l'énergie (Magzoub et Miranker, 2012). En outre, l'hormone amyline peut former les espèces oligomériques au niveau intracellulaire, spécifiquement dans le réticulum endoplasmique (ER), l'appareil de Golgi et les vésicules sécrétoires. Les oligomères peuvent se trouver dans le cytosol, provenant des vésicules désintégrées. Les oligomères du cytosol peuvent ensuite percer la membrane des organites essentiels, tels que les mitochondries et l'ER (Gurlo *et al.*, 2010b). La perturbation de la membrane mitochondriale cause la perte du potentiel électrochimique membranaire, la libération du cytochrome c, l'activation des caspases et ainsi, l'apoptose (Li *et al.*, 2011). De plus, une étude a montré que la dysfonction mitochondriale peut augmenter la concentration des espèces réactives de l'oxygène (ROS) chez les cellules des reins, causant l'insuffisance rénale (Verma et Despa, 2023).

1.5 La problématique, l'hypothèse et les objectifs

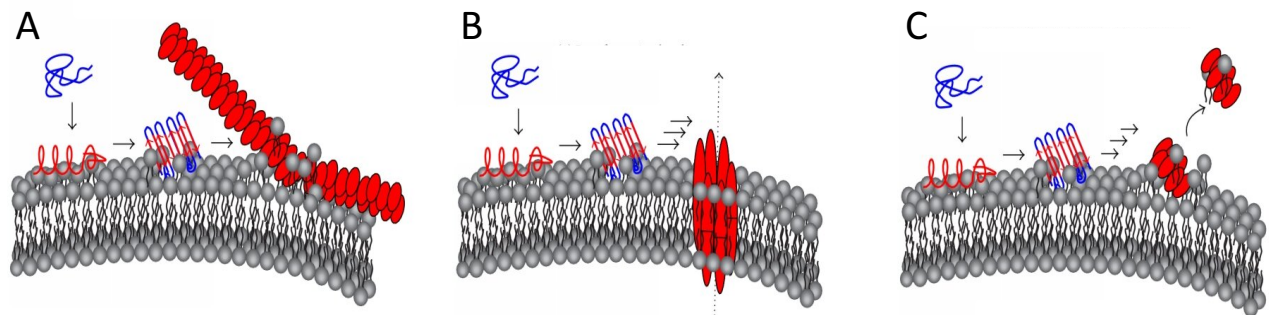


Figure 1.13 Trois mécanismes proposés de perturbation membranaire par l'IAPP. L'amyline adopte la conformation hélicoïdale après avoir lié à la membrane. Le mécanisme de la perturbation membranaire lié à A) l'auto-assemblage, B) la formation des pores, C) l'extraction des lipides (mécanisme de type détergent). Figure adaptée de (Gao et Winter, 2015).

Un petit nombre des PAMs ont la capacité de s'auto-assembler en fibres, ce qui contribue à leur activité antimicrobienne. Par exemple, le peptide cathélicidine humain LL-37 et le peptide humain α -defensin 6 s'auto-assemblent en fibres amyloïdes pour interagir avec l'ADN microbien (Lee *et al.*, 2020) et piéger les bactéries empêchant l'invasion des cellules hôtes (Chairatana et Nolan, 2017).

Au cours des deux dernières décennies, un grand nombre d'études et de revues de littérature ont suggéré un lien possible entre la capacité à s'auto-assembler en fibres amyloïdes et l'activité antimicrobienne des peptides amyloïdogéniques. Cette relation a été premièrement démontrée avec le peptide A β (Soscia *et*

al., 2010a). Il a été rapporté que l'A β possède une activité antimicrobienne contre de nombreux microorganismes, des levures et des bactéries, avec une puissance équivalente à celle de LL-37. Plus tard, la même équipe a testé l'activité antimicrobienne sur les souris. Les souris ayant leur cerveau infecté par la levure pathogénique souvent liée à la maladie de l'Alzheimer, *Candida albicans*, ont plus de chance de survivre avec l'A β que les souris n'ayant pas d'A β . Le peptide A β empêche la propagation et l'adhésion de la levure (Kumar *et al.*, 2016). De plus, il a été rapporté qu'il y a une augmentation d'incidence des infections chez les patients de la maladie de l'Alzheimer avec les traitements (Gosztyla *et al.*, 2018). Une autre étude sur la protéine α -synucléine a montré que cette protéine présente des propriétés antimicrobiennes puisqu'elle est aussi puissante pour inhiber les microorganismes à faible concentration (Park *et al.*, 2016). Alors, les chercheurs ont postulé une hypothèse sur la protection antimicrobienne : en vieillissant, la barrière hémato-encéphalique et le système immunitaire s'affaiblissent. Les microorganismes se réfugient dans le cerveau. Pour se protéger contre les pathogènes, les neurones produisent de l'A β , qui fait partie du système immunitaire inné. L'inflammation chronique cause la surproduction de l'A β . Il a été aussi proposé que les oligomères de l'A β induisent l'hyperphosphorylation de la protéine Tau (Butler et Walker, 2021; Moir *et al.*, 2018; Viggasova *et al.*, 2021).

Bien qu'il existe des études présentant les activités antimicrobiennes de l'A β et que d'autres recherches ont révélé que l' α -synucléine et l'IAPP présentent aussi des activités antimicrobiennes (Wang *et al.*, 2012b), la compréhension de la relation entre l'auto-assemblage amyloïde et l'activité antimicrobienne des peptides amyloïdogéniques demeure floue. En d'autres mots, est-ce que l'activité antimicrobienne dépend de l'auto-assemblage pour tous les peptides amyloïdogéniques?

Le fait que l'IAPP soit un peptide de 37 résidus, a une charge nette de +3 à pH physiologique, adopte une structure hélicoïdale amphipathique en présence des membranes et forme des fibres amyloïdes comme l'A β , rend le peptide un candidat potentiel ayant une activité antimicrobienne. Étant donné que chaque structure quaternaire, les monomères, les oligomères et les fibres amyloïdes, sont distinctes, il est possible que l'activité antimicrobienne soit différente pour chaque structure. Dans ce contexte, nous proposons que la relation entre l'auto-assemblage et l'activité antimicrobienne de l'IAPP pourrait être évaluée avec divers analogues ayant des substitutions chimiques spécifiques qui modulent la tendance à l'aggrégation, soit une cinétique retardée ou accélérée. De plus, il est possible d'étudier la structure secondaire et l'activité antimicrobienne.

L'objectif global de ce projet de maîtrise est d'explorer la relation entre l'auto-assemblage et l'activité antimicrobienne des peptides amyloïdogéniques en prenant l'IAPP comme modèle. Dans ce contexte, les trois objectifs spécifiques sont les suivants:

1. Étudier l'activité antimicrobienne de chaque structure quaternaire de l'IAPP sur deux bactéries, une de Gram-négatif et une de Gram-positif.
2. Explorer le lien entre l'amyloïdogénicité et l'activité antimicrobienne de l'IAPP en utilisant des analogues substitués affichant différentes vitesses d'auto-assemblage.
3. Déterminer la nécessité du repliement hélicoïdal sur l'activité antimicrobienne de l'IAPP en utilisant deux analogues qui ont un ensemble conformationnel contraint.

CHAPITRE 2

ARTICLE

PROBING THE RELATIONSHIPS BETWEEN SELF-ASSEMBLY AND THE ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF AMYLOIDOGENIC PEPTIDES: THE ISLET AMYLOID POLYPEPTIDE AS A CASE STUDY

Vy Nguyen^{1,2}, Mélanie Côté-Cyr^{1,2}, Arthur Nery Finatto³, Margaryta Babych^{1,2}, Phuong Trang Nguyen^{1,2},
Mathew Sebastiao^{1,2} & Steve Bourgault^{1,2*}

¹Department of Chemistry, Université du Québec à Montréal, C.P. 8888, Succursale Centre-Ville,
Montreal, H3C 3P8, Canada

²Quebec Network for Research on Protein Function, Engineering and Applications, PROTEO, Canada

³Department of Large Animal Clinical Sciences, University of Saskatchewan, Saskatoon, S7N 5B4, Canada

Manuscrit publié dans *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – General Subjects*

DOI : [10.1016/j.bbagen.2025.130812](https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2025.130812)

Contribution des auteurs :

Vy Nguyen : Conception du projet, exécution des expériences (cinétique d'auto-assemblage, spectres d'émission de la ThT et de l'ANS, conformation secondaire par dichroïsme circulaire (CD), essais de perturbation membranaire, essais de cytotoxicité antimicrobienne, essais de l'agglutination, essais de la capacité de stabilité de la conformation hélicoïdale des analogues par CD, visualisation de la cytotoxicité par microscopie confocale, analyse par AFM, traitement des résultats, analyses statistique, préparation des figures, rédaction de l'article.

Mélanie Côté-Cyr: Analyses par microscopie électronique à balayage (SEM) et à transmission (TEM).

Arthur Nery Finatto: Essais de cytotoxicité antimicrobienne.

Margaryta Babych: Synthèse du peptide c[Pra24Azk28] IAPP.

Phuong Trang Nguyen: Synthèse des peptides et analyse par AFM.

Mathew Sebastiao: Préparation des figures et analyse des résultats.

Steve Bourgault: Supervision et conception du projet, révision de l'article.

2.1 Résumé

Les peptides antimicrobiens (PAM) sont des composants clés du système immunitaire inné chez divers organismes. Il est intéressant de noter que certains PAMs peuvent adopter une structure secondaire en feuillets- β et s'auto-assembler en fibres amyloïdes. Des travaux récents ont également révélé que les peptides amyloïdogènes présentent des propriétés antimicrobiennes et partagent avec les PAMs un mécanisme commun de perturbation de la membrane plasmique. Dans cette étude, nous avons exploré les relations entre l'activité antimicrobienne des peptides amyloïdogènes et leur auto-assemblage en utilisant l'islet amyloid polypeptide (IAPP) comme modèle. L'IAPP est une hormone de 37 résidus sujette à l'agrégation dont le dépôt et l'accumulation dans le pancréas sont associés au diabète de type II. Des essais antimicrobiens ont révélé que les monomères et les agrégats préfibrillaires de l'IAPP, y compris les oligomères solubles, inhibent la croissance d'*Escherichia coli* et de *Staphylococcus epidermidis*. En outre, les espèces monomériques et préfibrillaires perturbent les vésicules lipidiques anioniques qui imitent la membrane plasmique bactérienne et diminuent l'activité métabolique des bactéries. En revanche, les fibres amyloïdes pré-assemblées présentaient une faible activité antimicrobienne et une perturbation de la membrane lipidique limitée, bien qu'elles agglutinent avidement les bactéries. En tirant parti de substitutions spécifiques de résidus qui modulent la propension à l'agrégation, nous avons observé que les dérivés dont l'amyloïdogénicité est entravée conservent des activités antimicrobiennes, tandis que ceux dont la cinétique d'auto-assemblage amyloïde est accélérée ont un effet antimicrobien plus faible. En outre, en modulant la propension de l'IAPP à se replier en une hélice- α , nous avons observé que la formation d'amyloïdes n'est pas une condition essentielle à l'activité antimicrobienne, tandis que la déstabilisation du repliement hélicoïdal réduit l'activité antimicrobienne de l'IAPP. Cette étude offre des informations mécanistiques fondamentales sur l'activité antimicrobienne modeste de l'IAPP et souligne l'importance de prendre des précautions avant de généraliser concernant le potentiel antimicrobien des polypeptides amyloïdes.

2.2 Abstract

Antimicrobial peptides (AMPs) are key components of the innate immune system across diverse organisms. Interestingly, some AMPs can adopt β -sheet secondary structure and self-assemble into amyloid-like fibrils. Recent works have also revealed that amyloidogenic peptides exhibit antimicrobial properties and share a common mechanism of plasma membrane perturbation with AMPs. In this study, we explored the relationships between the antimicrobial activity of amyloidogenic peptides and their self-assembly by using the islet amyloid polypeptide (IAPP) as a model. IAPP is an aggregation-prone 37-residue hormone whose pancreatic deposition and accumulation are associated with type II diabetes. Antimicrobial assays revealed that IAPP monomers and prefibrillar aggregates, including soluble oligomers, inhibit the growth of *Escherichia coli* and *Staphylococcus epidermidis*. Additionally, monomeric and prefibrillar proteospecies perturbed anionic lipid vesicles that mimic bacterial plasma membrane and decrease the metabolic activity. In contrast, pre-assembled amyloid fibrils exhibited weak antimicrobial activities and lipid membrane perturbation, although they agglutinated bacteria avidly. By taking advantage of residue-specific substitutions that modulate the aggregation propensity, we observed that derivatives with hindered amyloidogenicity retained antimicrobial activities, while those with accelerated kinetics of amyloid self-assembly had weaker antimicrobial effect. Moreover, by modulating the propensity of IAPP to fold into a α -helix, we observed that amyloid formation is not a prerequisite for the antimicrobial activity, while the destabilization of helical folding reduced IAPP antimicrobial activity. This study provides fundamental mechanistic insights of the modest antimicrobial activity of IAPP and highlights that precaution should be taken before generalizing the antimicrobial potential of self-assembling amyloid polypeptides.

2.3 Introduction

The discovery of antibiotics and their use worldwide have saved millions of lives by treating countless infectious diseases (Sakai et Morimoto, 2022), leading to a sharp rise of life expectancy (Hutchings *et al.*, 2019). Unfortunately, the overuse and misuse of antibiotics in both medical and agricultural practices have contributed to antibiotic resistance (Llor et Bjerrum, 2014; Manyi-Loh *et al.*, 2018a), which constitutes a serious threat. Projections estimate that drug-resistant infections could result in up to 9 million deaths annually by 2050 if this issue is not addressed promptly (Naghavi *et al.*, 2024b). Therefore, the discovery of new antimicrobial drugs remains critical and antimicrobial peptides (AMPs) have proven to represent a promising avenue. AMPs, often called host defence peptides, are key components of the innate immune system across all living organisms (Gong *et al.*, 2021). These peptides, with lengths spanning from 10 to 50 residues (Munk *et al.*, 2014), show a high diversity of sequences and structures, from cationic α -helical peptides to amphipathic β -sheet peptides (Chen et Jiang, 2023). Among the different antimicrobial mechanisms, the perturbation of the bacterial membrane by AMPs is the most commonly described. As the majority of AMPs are positively charged, the binding of AMPs to the cell membrane is driven by electrostatic interactions given that bacterial membranes are negatively charged due to the abundance of anionic phospholipids and glycans (Wilson *et al.*, 2001). Upon binding, AMPs can disrupt the lipid membrane by three possible mechanisms: barrel-stave, toroidal and carpet mechanisms (Wimley, 2010a). Additionally, some AMPs also target specific intracellular machineries instead of the plasma membrane, such as DNA replication and proteins synthesis and folding, yet they still have to interact with the membrane to penetrate inside the cytoplasm (Le *et al.*, 2017b). Interestingly, several AMPs have shown the capacity to self-assemble into a diversity of supramolecular quaternary structures, which contributes to their antimicrobial potential (Baltutis *et al.*, 2022; Chen *et al.*, 2022). For instance, it was observed that the human cathelicidin LL-37 and some β -defensins self-assemble into amyloid-like fibrils that scaffold microbial DNA and entrap bacteria in order to amplify the efficacy of their antimicrobial effect (Baltutis *et al.*, 2022; Bhattacharjya *et al.*, 2024; Engelberg et Landau, 2020; Gan *et al.*, 2021; Raschig *et al.*, 2017; Semple *et al.*, 2011)

Likewise, over the last two decades, growing experimental evidence have suggested a possible link between the amyloidogenicity, *i.e.* the capacity to self-assemble into cross- β -sheet amyloid fibrils, and the antimicrobial potential of peptides (Wani *et al.*, 2024). This association was first reported for the amyloid β -peptide (A β), an aggregation-prone peptide whose deposition in the brain as insoluble amyloid plaques is associated with the Alzheimer's disease (Zhang *et al.*, 2023). It was reported that A β has antimicrobial

activity against clinically relevant microorganisms with a potency equivalent to LL-37, and that the antimicrobial activity of brain homogenates correlates with levels of A β peptide (Soscia *et al.*, 2010b). More recently, it was observed using cellular and animal models, that A β oligomerization is essential for the antimicrobial actions of A β through interaction with the glycans of bacteria cell wall and that organized amyloid fibrils promote agglutination and entrapment of bacteria (Vijaya Kumar *et al.*, 2016). As the body of evidence supporting the antimicrobial activities of A β peptide flourished (Maghsoodi et Chi, 2022; Prosswimmer *et al.*, 2024; Spitzer *et al.*, 2016; Voth *et al.*, 2020; White *et al.*, 2014), additional studies revealed that other proteins and peptides whose aggregation are associated with amyloid-related disorders, such as α -synuclein and the islet amyloid polypeptide (IAPP), also exhibit antimicrobial properties (Park *et al.*, 2016; Wang *et al.*, 2012b). These findings reinforce the plausible relationship between the amyloidogenicity of polypeptides and their antimicrobial activities. Although studies have shown that amyloidogenic polypeptides have antimicrobial effects, and several reviews have highlighted their potential roles as AMPs (Bruno *et al.*, 2022; Pastore *et al.*, 2020; Tatar, 2022; Vojtechova *et al.*, 2022), the precise molecular details underlying their mechanisms of action remain somewhat sparse.

To explore the correlation between the quaternary structures, the self-assembly capacity and the antimicrobial activity of amyloidogenic peptides, we use the aggregation-prone peptide IAPP, also known as amylin, as a case study. IAPP is a 37-residue peptide hormone that is co-secreted with insulin by pancreatic β -cells and mediates important biological functions, including glucose homeostasis (Muhammad *et al.*, 2025; Westermark, 2011). Notwithstanding its biological activities, IAPP was initially discovered as the main component of pancreatic amyloid deposits observed in patients afflicted with type II diabetes (Akter *et al.*, 2016b). Interestingly, it was reported that non-fibrillated IAPP has antimicrobial activity on both Gram-negative and Gram-positive bacteria (Wang *et al.*, 2012b). Herein, we first evaluated the antimicrobial activities of different quaternary structures of IAPP on two types of bacteria involved in nosocomial infections, *Escherichia coli* (*E. coli*) and *Staphylococcus epidermidis* (*S. epidermidis*) (Abdallah, 2021; Ludden *et al.*, 2021). Secondly, by harnessing a library of designed IAPP derivatives with different amyloidogenicity and/or restricted conformational ensemble, we probed the relationships between amyloid aggregation and antimicrobial activity. Our results revealed that the different quaternary structures of IAPP exert distinct effects on bacteria, with monomers and prefibrillar species having a bacteriostatic effect and amyloid fibrils being not toxic to bacteria, while avidly agglutinating them. Overall, this study exposes that the kinetics of amyloid formation as well as the conformational ensemble of the monomer both have critical impact on the antimicrobial activities of IAPP.

2.4 Materials and methods

2.4.1 Materials

N- α -Fmoc-protected amino acids, Rink Amide AM resin and 2-(6-chloro-1-H-benzotriazole-1-yl)-1,1,3,3-tetramethylaminium hexafluorophosphate (HCTU) were acquired from Matrix Innovation. Fmoc-L-propargylglycine, Fmoc-azidolysine and three pseudoproline dipeptides Fmoc-Ser(tBu)-Ser(psiMe, Mepro)-OH, Fmoc-Leu-Ser(psiMe, Mepro)-OH and Fmoc-Ala-Thr(psiMe, Mepro)-OH were obtained from Novabiochem. Piperidine was procured from A&C American Chemicals. 1,2-dioleoyl-sn-glycero-3-phosphocholine (DOPC) phospholipid was purchased from Avanti Polar Lipids. Sephadex G-25 fine gel filtration resin was obtained from Cytiva. LIVE-DEAD BacLight Bacterial Viability Kit L7012 was acquired from Invitrogen. 96-well black and clear bottom nonbinding surface microplates were purchased from Corning. Dimethyl sulfoxide (DMSO) was procured from Fisher Scientific. Mueller-Hinton broth (MHB), resazurin sodium salt, 1,2-dioleoyl-sn-glycero-3-phospho(1'-rac-glycerol) (DOPG) phospholipid, calcein, 2,2,2-Trifluoroethanol (TFE), solvents for peptide synthesis and purification, as well as all other chemicals were obtained from Sigma-Aldrich.

2.4.2 Peptide synthesis, purification and monomerization

Peptides were synthesized on a Rink Amide AM resin using Fmoc chemistry, as previously described (De Carufel *et al.*, 2013). Pseudoproline dipeptides were introduced in the synthesis to prevent aggregation during synthesis. Peptides were cleaved from the resin using a mixture of trifluoroacetic acid (TFA), ethanedithiol (EDT), phenol and water (92%/2.5%/3%/2.5%) for 3 hours. After filtration and evaporation of the cleavage mixture, peptides were precipitated with diethyl ether and subsequently resolubilized in nanopure water before being lyophilized. The macrocyclized derivative of IAPP, c[Pra24Azk28], was obtained as recently described (Babych *et al.*, 2024). Crude peptides were purified by reverse-phase high performance liquid chromatography (RP-HPLC) using a preparative Luna C18 column with a linear gradient of acetonitrile in H₂O/TFA (0.06%, v/v). Collected fractions were analysed by analytical RP-HPLC to verify purity and by electrospray ionization mass spectrometry (LC/ESI-TOF) to have the exact molecular weight. Fractions containing the peptides of interest were pooled and lyophilized. The formation of disulfide bond between Cys-2 and Cys-7 was achieved by DMSO oxidation under mild agitation overnight. Cyclised peptides were then diluted in 0.06% TFA water before being repurified by RP-HPLC. Fractions containing the desired cyclised peptides with over 95% purity were pooled and lyophilized. Peptide powders were dissolved in 100% hexafluoro-2-propanol (HFIP) at a concentration of 1 mg/mL. The solution was sonicated

for 30 mins and passed through a 0.22 µm hydrophilic PVDF filter before being lyophilized. The peptide powder obtained after lyophilisation was dissolved once more in HFIP and sonicated for 30 min. The solution was divided into aliquots and lyophilised. Aliquots of monomerized IAPP were kept dried at -80°C, for a maximum of four weeks.

2.4.3 Preparation of IAPP prefibrillar species and amyloid fibrils

IAPP prefibrillar species and fibrils were prepared by incubating freshly monomerized peptides under quiescent conditions at a concentration of 500 µg/mL (128 µM) in 20 mM Tris-HCl pH 7.4 buffer for 30 mins and 48 h, respectively.

2.4.4 Fluorescence spectroscopy

Peptide solution was diluted to reach a final concentration of 25 µM. Thioflavin T (ThT) and anilino-8-naphthalenesulfonate (ANS) were respectively added to the peptide sample to reach a final concentration of 40 µM. Fluorescence was measured in a 10 mm quartz cuvette using a PTI Quanta Master 400 spectrofluorometer. For ThT, the excitation was set at 440 nm, and the fluorescence emission was recorded from 450 nm to 550. For ANS, the excitation wavelength was set at 355 nm, and the fluorescence emission was recorded from 385 nm to 585 nm. For all measurement, a blank containing only buffer was prepared.

2.4.5 Circular dichroism spectroscopy

IAPP solutions were diluted to a final concentration of 25 µM in 20 mM Tris-HCl pH 7.4 buffer and placed into a 0.2 cm quartz cell. Far-UV CD spectra was recorded from 190 to 260 nm using a Jasco J-815 CD spectropolarimeter. Wavelength pitch was set to 0.5 nm and each scan required 10 s. Spectra were background subtracted with peptide-free buffer. Raw data were converted to mean residue ellipticity (MRE) using the following equation: $MRE = (mdeg \times 10^5) / (C \times n \times l)$; where C is the peptide concentration expressed in µM, n is the number of residues and l is the cell pathlength in cm. For titration with trifluoroethanol (TFE), TFE was added to a 20 mM Tris-HCl pH 7.4 buffer to obtain 2.5%, 5.0%, 7.5%, 10%, 15%, 20% and 30% TFE (v/v). Peptides were dissolved in 20 mM Tris-HCl pH 7.4 buffer with increasing TFE concentrations, from 2.5% to 30% (v/v), and immediately transferred into a 0.2 cm quartz cell. The CD spectra were recorded using the parameters described above.

2.4.6 Transmission electron microscopy

Peptide solutions were diluted to reach a final concentration of 25 μ M in 20 mM Tris-HCl buffer pH 7.4 before being applied on a glow-discharged copper carbon-coated 300 mesh grid. The negative staining was carried out by treating the grid with 1.5% uranyl formate for 45 s. The excess uranyl formate was removed, and the grid was then air-dried overnight. Images were captured using a FEI Tecnai G2 Spirit Twin microscope, operating at 120 kV and equipped with a Gatan Ultrascan 4k x 4k CCD system.

2.4.7 Atomic force microscopy

Peptide solutions were diluted to a final concentration of 25 μ M in 20 mM Tris-HCl buffer pH 7.4. 10% acetic acid was added to the peptide solutions to have a final concentration of 1% acetic acid. The mixture was then immediately applied onto a clean mica surface and the surface was washed twice with nanopure water and air-dried overnight. Images were taken on a Veeco/Bruker Multimode AFM using tapping mode with a silicon tip (2-12 tip radius, 0.4 N/m force constant) on a nitride lever. Images were taken at 0.2 Hz and 512 scan/min.

2.4.8 Leakage of lipid vesicles

Large unilamellar vesicles (LUVs) composed of DOPC/DOPG phospholipids in a ratio of 8:2 with encapsulated calcein were prepared as previously described (De Carufel *et al.*, 2015). Briefly, lipid film was hydrated in 20 mM Tris-HCl pH 7.4 containing 70 mM calcein and the calcein-lipid mixture was freeze-thawed 5 times before being extruded with a 100 nm polycarbonate membrane. Calcein-encapsulated LUVs were purified by size-exclusion chromatography using Sephadex G-25 fine gel and a 20 mM Tris-HCl pH 7.4, 150 mM NaCl elution buffer. The concentration of LUVs was then determined by means of the inorganic phosphorus assay (Fiske et Subbarow, 1925). Membrane leakage was measured by monitoring the increase of calcein fluorescence over time in a 96-well microplate. Peptides were used at a final concentration of 100 mg/mL and calcein-loaded LUVs were used at a concentration of 500 μ M. Fluorescence was read at 517 nm every 10 min with excitation set at 495 nm. Control for the 100% leakage ($F_{\max}$) corresponds to the fluorescence obtained with 0.1% of Triton X-100. Dye leakage was reported using the following equation: % membrane leakage = $(F - F_0) \times 100 / (F_{\max} - F_0)$, where F is the fluorescence of LUVs with peptide and F_0 is the fluorescence of LUVs without peptide. Data of at least three individual experiments performed with different lot of peptides were averaged and expressed as the mean $\pm$ S.E.M.

One-way ANOVA was applied to evaluate significance, with statistical significance set at $P < 0.05$. Statistical analysis was performed using GraphPad Prism 10.2.

2.4.9 Determination of bacteria concentration by optical density

Overnight cultures of bacteria were prepared by selecting five colonies and suspending them in fresh MHB. The culture was incubated for 16 hours at 37°C with shaking at 220 rpm in a benchtop orbital shaker. A new inoculum was prepared by diluting the culture. Bacteria growth was monitored every 20 minutes by measuring the OD at 600 nm using a bench spectrophotometer. When the growth curve was linear (exponential phase), the culture was serially diluted, and 100 μ L of the two last dilutions were added on agar plates. The next day, colonies were counted and correlated with the OD₆₀₀ for the culture.

2.4.10 Determination of antibacterial activity of peptides

Escherichia coli (*E. coli*, ATCC 11303) and *Staphylococcus epidermidis* (*S. epidermidis*, ATCC 12228), were used for antimicrobial assays performed according to the protocol of Allen et al., (Allen et al., 2022). The peptides and bacteria solution were prepared separately. Peptides were two-fold serially diluted in 20 mM Tris-HCl buffer pH 7.4. Bacteria suspension was diluted into fresh MHB to obtain an inoculum of 6.25×10^5 CFU/mL. Diluted bacterial suspension was then added to the respective peptide solutions before transferring the mixture into 96-well non-binding microplate. The initial inoculum for the experiment was 5×10^5 CFU/mL. The OD at 600 nm was measured every 15 minutes using a Tecan Infinite M1000Pro microplate reader. Antibacterial activity was expressed as percentage of the inhibition at 16 h calculated by the following equation: % growth inhibition = $[1 - (\text{OD}_{600 \text{ nm sample}} / \text{OD}_{600 \text{ nm untreated bacteria}})] \times 100$. Data of at least three individual experiments performed with different lot of peptides were averaged and expressed as the mean $\pm$ S.E.M. Statistical analysis was performed using a two-way ANOVA and statistical significance set at $P < 0.05$.

2.4.11 Measurement of bacterial metabolic activity by the reduction of resazurin

After 4 hours of incubation under the same conditions as described above (2.10), 20 μ L of 440 μ M resazurin was added, and the fluorescence was recorded every 15 mins for 1 h using an excitation at 530 nm and emission at 590 nm. Data was expressed as a percentage of metabolic activity calculated by the following equation: % Metabolic activity = $[(F - F_{\text{blank}}) / (F_{\text{untreated}} - F_{\text{blank}})] \times 100$, where F is the fluorescence of the peptide-treated sample, $F_{\text{untreated}}$ is the fluorescence of untreated bacteria and F_{blank} is the fluorescence of buffer-broth vehicle control. Data of at least three individual experiments performed with

different lot of peptides were averaged and expressed as the mean $\pm$ S.E.M. Statistical analysis was performed by two-way ANOVA, with statistical significance set at $P < 0.05$.

2.4.12 Confocal fluorescence microscopy

After 4 hours of incubation under the conditions as described above (2.10), the bacteria culture was centrifuged at $7000 \times g$ for 7 minutes at room temperature. The pellet was then washed once with phosphate-buffered saline (PBS) (1.06 mM KH_2PO_4 , 154 mM NaCl, 5.60 mM Na_2HPO_4). Staining was carried using the LIVE/DEAD kit containing SYTO-9 (3.34 μM) and propidium iodine (40 μM). 5 μL of the staining mixture was loaded between a coverslip and an agarose pad gel. Images were captured using a fluorescence confocal Nikon Ti microscope with 60x oil-immersion lens equipped with Nikon A1 plus camera. Images were processed by Fiji software.

2.4.13 Agglutination assay

Pull-down of bacteria by peptides was measured by using the agglutination assay described by (Tram *et al.*, 2023). Briefly, the bacterial cultures were diluted into phosphate-buffered saline PBS to reach a starting $\text{OD}_{600\text{nm}}$ of 0.5. Peptides were two-fold serially diluted in 20 mM Tris-HCl buffer pH 7.4. Peptides solution was then diluted into prepared bacterial culture before transferring the mixture into a disposable plastic cuvette ($12 \times 12 \times 4.5$ mm). $\text{OD}_{600\text{nm}}$ was measured every hour and bacterial agglutination was expressed as the percentage of normalised $\text{OD}_{600\text{nm}}$ calculated by the following equation: % normalised $\text{OD}_{600\text{nm}} = (\text{OD}_{600\text{nm}} \text{ sample} / \text{OD}_{600\text{nm}} \text{ sample at 0h}) \times 100$. Statistical analysis was performed using two-way ANOVA, with statistical significance set at $P < 0.05$.

2.4.14 Scanning electron microscopy

At the end point of the agglutination assay, 250 μL of the solution located at the bottom of the cuvettes, including the pellet, was withdrawn and centrifuged at $10\,625 \times g$ for 5 min. Pellet was then washed twice with PBS and fixed with 500 μL of 2.5% glutaraldehyde overnight. Fixed samples were washed, resuspended in PBS and deposited onto poly-L-lysine coated lamellae. Samples were dehydrated with a series of ethanol washes and dried using a critical point dryer Leica EM CPD300. The samples were then platinum-coated using a Leica EM ACE600. Images were captured using FEI Quanta 450 scanning electron microscope equipped with a EDAX octane super 60 mm².

2.5 Results

2.5.1 Effects of IAPP quaternary structure on antibacterial activity

Due to its primary sequence (**Figure 2.1A**) that encompasses two hydrophobic segments and several Asn residues that can be involved in H-bond ladder (Röder *et al.*, 2020), IAPP has a high tendency to spontaneously self-assemble into amyloid fibrils (Milardi *et al.*, 2021). Under its monomeric state, IAPP adopts predominately a random coil conformation, although it differs from a disordered polypeptide by the presence of transient helical conformations (Williamson et Miranker, 2007), which can be stabilized under membrane mimicking environment (Jayasinghe et Langen, 2005; Patil *et al.*, 2009b). The peptide includes three positively charged residue side chains that project on the same face of the α -helix (**Figure 2.1B**), indicative of the formation of an amphipathic helix in presence of lipid membranes. We initially evaluated the antimicrobial activities of IAPP under different quaternary states, *i.e.*, primarily monomeric, prefibrillar species and amyloid fibrils. IAPP was first pre-incubated, or not, under quiescent conditions at RT in 20 mM Tris-HCl, pH 7.4 before being applied to bacteria. As expected, the far-UV CD spectrum of monomerized IAPP after solubilisation (0 h) was characterized by a single minimum at 200 nm, indicating of a random coil conformation (**Figure 2.1C**). Additionally, the prevalence of monomers at time 0 was confirmed by absence of fluorescence signal from the amyloid-selective dye ThT and the hydrophobic reporter ANS, whereas no aggregates were detected by TEM (**Figure 2.1D, 2.1E, 2.1F**). Prefibrillar species obtained after 30 min incubation under quiescent conditions, were characterized by a CD spectrum with two minima of 206 nm and 216 nm (representing a mixture of secondary structure), an absence of ThT fluorescence, and an increase in ANS fluorescence relative to the monomer. These prefibrillar species appeared as small, aligned, pale spots on TEM images, yet no large aggregates could be detected. After 48 h of incubation, IAPP assembled into well-defined cross- β -sheet amyloid fibrils, as demonstrated by a single minimum at 218 nm on CD spectrum, strong fluorescence signal of both ThT and ANS, and the fibrillar morphology observed by TEM (**Figure 2.1C-2.1F**).

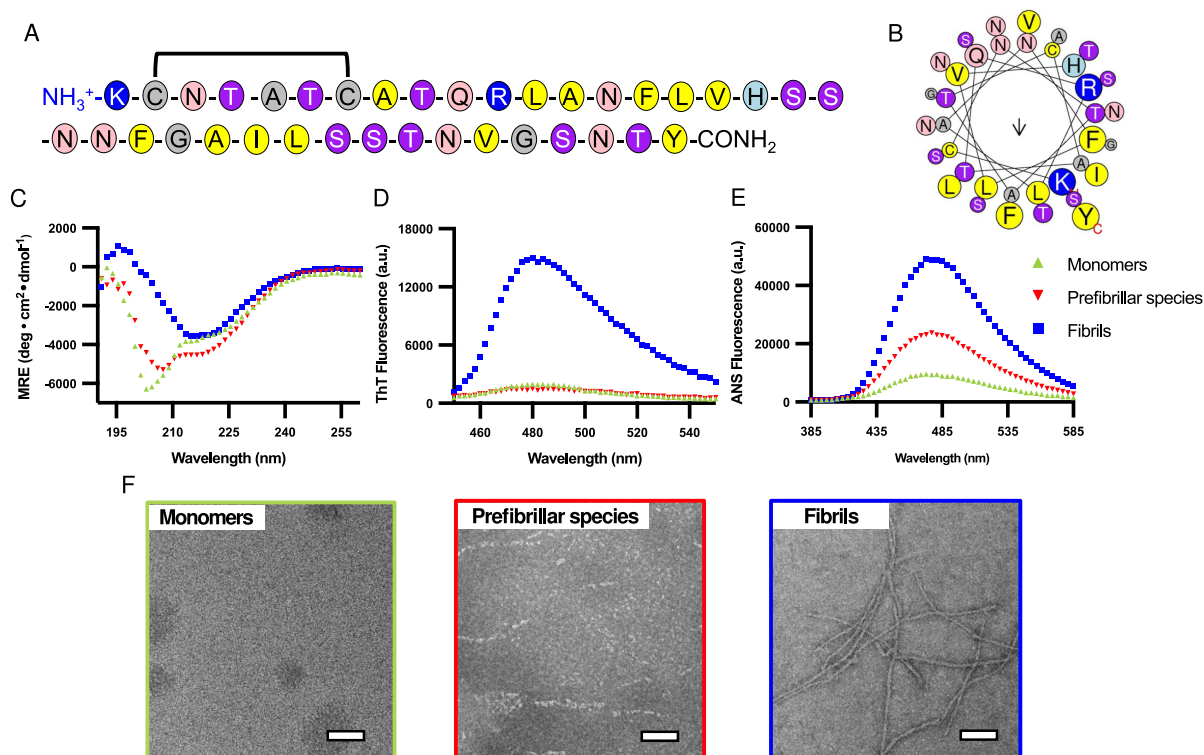


Figure 2. 1 IAPP primary sequence and characterization of quaternary structures. (A) Sequence of IAPP with hydrophobic residues in yellow, polar residues in purple and pink, and positively charged residues in blue, and cyan for His. The disulfide bond between Cys-2 and Cys-7 and the amidated C-terminus are indicated. (B) Helical wheel projection of IAPP by HeliQuest showing the presence of the two charged residues, and the His18 residue, on the same surface of the helix. (C-F) Monomerized IAPP was resuspended in 20 mM Tris-HCl, pH 7.4 at 500 $\mu\text{g/mL}$ (128 μM). Prefibrillar species and fibrils were prepared by incubating monomerized IAPP under quiescent conditions at room temperature for 30 mins and 48 h, respectively. (C) Evaluation of secondary structure by circular dichroism spectroscopy. (D) Detection of cross- β -sheet structure by ThT fluorescence. (E) Detection of the formation of hydrophobic patches by ANS fluorescence. (F) Representative TEM images of IAPP, scale bar is 200 nm.

Having access to different quaternary structures of IAPP, we evaluated their antimicrobial activities on two bacterial strains: *E. coli* (Gram-negative) and *S. epidermidis* (Gram-positive) (Silhavy *et al.*, 2010). We first monitored the growth of bacteria exposed to increasing concentrations of IAPP (monomers, prefibrillar species, amyloid fibrils) by measuring the OD of the bacteria culture. Aurein 1.2, an AMP secreted by the Australian frog *Litoria aurea* (Rai et Qian, 2017), was used as a positive control. Growth inhibition was expressed relative to the OD of untreated bacteria at 16 h of incubation. For both bacteria, treatment with 50 and 100 $\mu\text{g/mL}$ of amyloid fibrils led to a growth inhibition of 20% at 16 h (**Figure 2.2A**), indicating a mild bacteriostatic effect. At the highest concentration evaluated, monomers and prefibrillar species reduced the growth of *E. coli* by 42% and 33%, respectively. IAPP under its monomeric and oligomeric

assembly state inhibited the growth of *S. epidermidis* by around 50 % (**Figure 2.2A**). Additionally, the growth rate of both bacteria decreased in presence of IAPP monomers and prefibrillar species, while the bacteria treated with pre-assembled fibrils showed no significant difference in their growth rate compared to untreated bacteria (**Figure S2.1**).

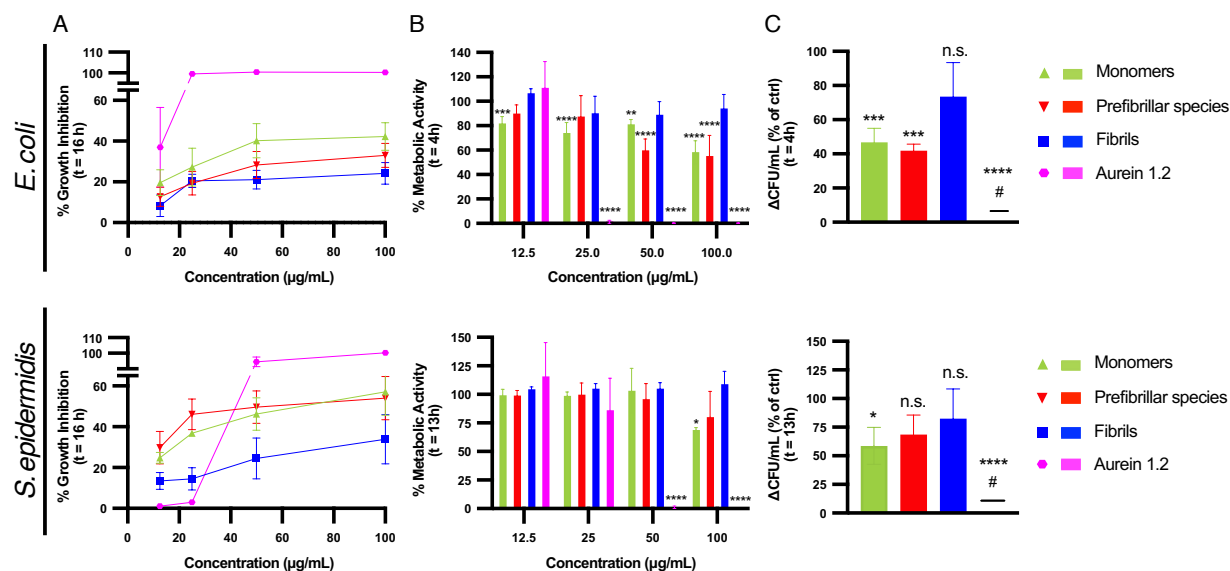


Figure 2. 2 The antimicrobial activity of IAPP depends on its quaternary state. (A) Inhibition of bacterial growth of *E. coli* (top) and *S. epidermidis* (bottom) in the presence of IAPP. Aurein 1.2 was used as a positive control. (B) Cytotoxicity of IAPP on *E. coli* (top) and *S. epidermidis* (bottom) as measured by the resazurin reduction assay. (C) Colony counting of *E. coli* (top) after 4 h incubation and *S. epidermidis* (bottom) after 13 h incubation with 100 μg/mL of IAPP expressed as a percentage relative to the control (untreated *E. coli*). # indicates an absence of detectable live bacteria after treatment with 100 μg/mL of Aurein 1.2. (A-C) Data of at least three assays were averaged and expressed as the mean ± S.D. Statistically significant differences between peptide-treated and untreated bacteria were evaluated by using a two-way (B) and a one-way (C) ANOVA with Dunnett's *post hoc* test and are denoted as (*) $p < 0.05$; (**) $p < 0.005$; (***) $p < 0.0005$; (****) $p < 0.0001$.

Considering that the antibiotic effectiveness closely correlates to bacterial cellular respiration (Stokes *et al.*, 2019) and that the measurement of OD does not evaluate this aspect, we then probed the antimicrobial activity of IAPP by evaluating resazurin reduction. Resazurin is a non-toxic metabolic dye that is reduced to resorufin by bacterial NADPH dehydrogenase and reductase (Braissant *et al.*, 2020). For *E. coli* and *S. epidermidis*, metabolic activity was evaluated after 4 hours and 13 hours of incubation, based on the late lag phase of untreated bacteria, *i.e.*, just before entering into the stationary phase (**Figure S2.1**). For monomers and prefibrillar species, a concentration-dependent decrease of metabolic activity was

observed for *E. coli*, while a significant decrease of metabolic activity was only observed at 100 µg/mL for *S. epidermidis*. (**Figure 2.2B**). Notably, increasing the concentration of IAPP monomers up to 400 µg/mL led to similar metabolic activity as observed at 100 µg/mL monomers (**Figure S2.2**). Moreover, the observed reduction of metabolic activity in presence of 100 µg/mL correlated with the decrease in viable CFU (**Figure 2.2C**). In contrast, amyloid fibrils did not reduce the metabolic activity of both bacteria, regardless of the concentration. This observation contrast with the apparent growth inhibition of pre-assembled fibrils measured by OD (**Figure 2.2A**). This discrepancy could be ascribed to the entanglement of bacteria within fibrils, leading to a decrease of OD, while not affecting bacteria metabolic activity. Furthermore, it is worth noting that the antimicrobial activities of IAPP took time to have effect, as the difference of bacteria population between negative control and treated bacteria was significant only after 4 h incubation (**Figure S2.3**). Overall, these observations suggest that IAPP monomers and prefibrillar species act as bacteriostatic agents against Gram-positive and Gram-negative bacteria. In contrast, pre-assembled amyloid fibrils have no ability to kill bacteria, while possibly having the capacity to agglutinate bacteria, a hypothesis that will be addressed below.

2.5.2 IAPP monomers disrupt anionic lipid membranes whereas amyloid fibrils induce bacteria agglutination

Owing to their cationic and amphiphilic nature, most AMPs exert their antimicrobial activity by permeabilization of the bacteria cell membranes, either through pore formation or the detachment of membrane lipids. For IAPP, its capacity to perturb lipidic membrane has been extensively studied in the context of the toxicity on pancreatic β -cells (Cao *et al.*, 2013a; Engel *et al.*, 2008; Janson *et al.*, 1999; Knight et Miranker, 2004). Accordingly, we initially monitored the leakage of large unilamellar vesicles (LUVs) encapsulating a high concentration of self-quenched calcein (**Figure 2.3A**). These model membranes were composed of DOPC/DOPG with a ratio of 8:2, which is representative of the content of negatively charged lipids found on the outer leaflet of bacteria plasma membrane (Sohlenkamp et Geiger, 2016). We focused exclusively on monomeric and fibrillar quaternary species, as the antimicrobial activities of prefibrillar species were similar to those of the monomers, while the monomer solution being more consistent. IAPP monomers showed a biphasic kinetics of calcein release from anionic LUVs and induced over 50% leakage after 20 h incubation (**Figure 2.2B, 2.2C**). In contrast, pre-assembled amyloid fibrils did not cause any significant disruption of LUVs, aligning with previous studies using anionic model membranes (Cao *et al.*, 2013a; Engel *et al.*, 2008). As for Aurein, it induced a massive perturbation of LUVs with leakage reaching close to 100% of that triton X-100 after 30 mins, as previously reported (Laadhari *et al.*, 2016). These

observations suggest a possible correlation between the capacity of IAPP monomers to perturb anionic lipid vesicles and its antimicrobial activity.

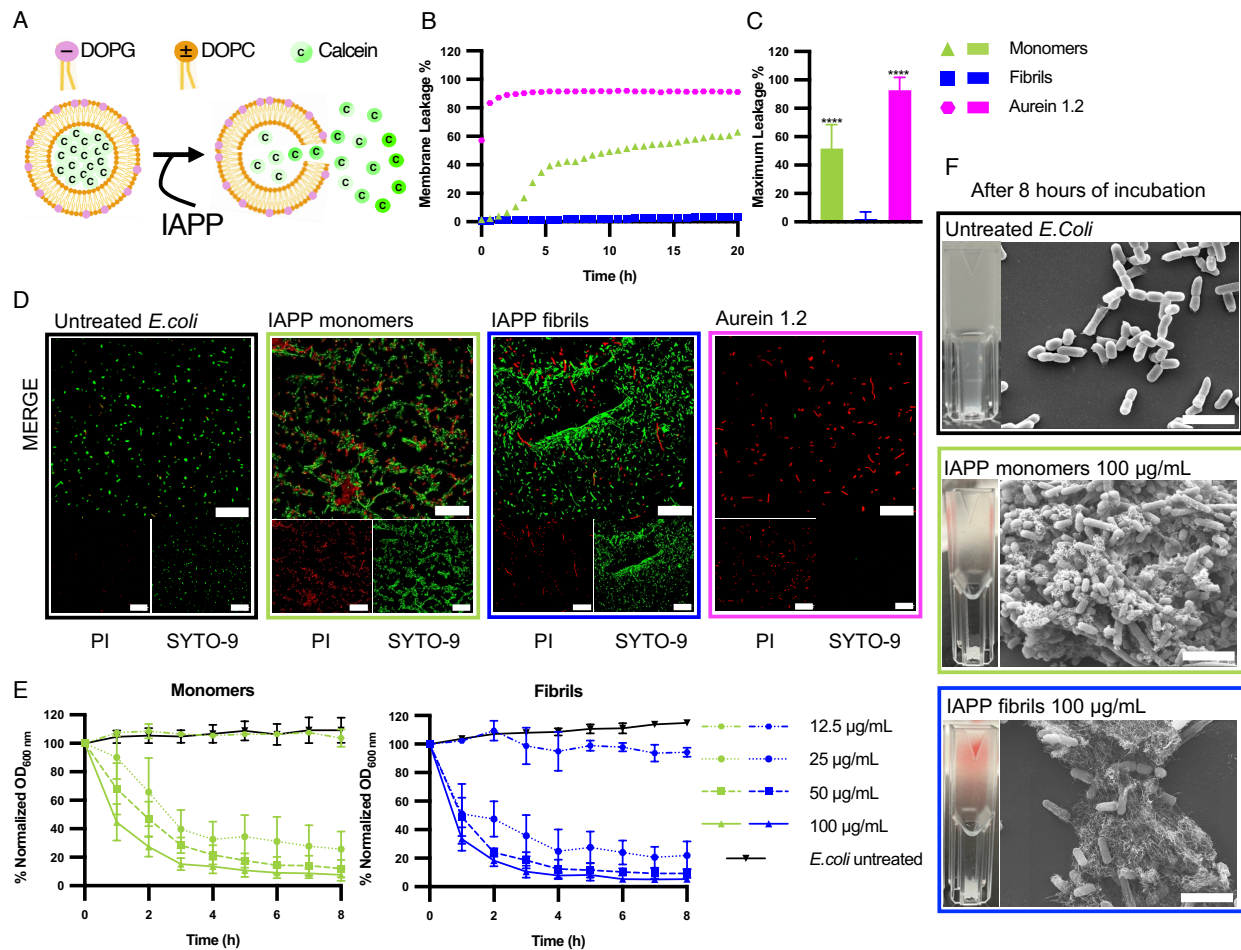


Figure 2. 3 Mechanisms of the antimicrobial activity of IAPP. (A) Schematic illustration of the leakage of synthetic anionic LUVs. (B) Representative kinetics of calcein leakage from LUVs composed of DOPC:DOPG (80:20) with 100 μ g/mL IAPP monomers, amyloid fibrils and Aurein 1.2. (C) Mean values of maximum leakage obtained from kinetic experiments. (D) Representative confocal fluorescence microscopy images after 4 hours of incubation with peptides or buffer alone. Scale bar is 20 μ m (E) Agglutination curves of *E. coli* with different concentrations of IAPP monomers and amyloid fibrils. (F) Representative SEM images of *E. coli* after 8 h incubation with peptides. Scale bar is 3 μ m. (C, E) Data of at least three assays were averaged and expressed as the mean $\pm$ S.D. (C) Statistically significant differences between peptide-treated and buffer-only control were evaluated by using an one-way ANOVA with Dunnett's *post hoc* test and are denoted as (*) $p < 0.05$; (**) $p < 0.005$; (***) $p < 0.0005$; (****) $p < 0.0001$.

Although model membranes composed of synthetic lipids are useful tools intended to study the interaction of antimicrobial peptides and membrane lipids, they lack essential cellular components such

as murein wall, lipopolysaccharides (LPS) and transmembrane proteins (Strahl et Errington, 2017). Thus, this oversimplification may not provide a direct correlation between leakage capacity and the antimicrobial activity of IAPP (Cao *et al.*, 2013a). To confirm the ability of IAPP to perturb the bacterial membrane of *E. coli*, we labelled the treated bacteria with two fluorescent dyes: SYTO-9 and propidium iodine (PI), before imaging the bacteria by confocal microscopy. SYTO-9 stains all bacteria in green, regardless of the membrane integrity. On the other hand, PI stains only bacteria with compromised plasma membrane, displacing SYTO-9 due to its higher affinity for DNA (Stocks, 2004). Considering that IAPP peptides showed a more pronounced effect on Gram-negative *E. coli*, the Gram-positive *S. epidermidis* was not included in further experiments. Bacteria were incubated in presence of 100 µg/mL of IAPP (monomers or amyloid fibrils) and Aurein 1.2 for 4 h before staining and imaging. As observed in **Figure 2.3D**, untreated bacteria were evenly spread out and there is a negligible number of red bacteria. In sharp contrast, IAPP monomers induced the clustering of bacteria and a sharp increase of red-labelled cells. Interestingly, IAPP amyloid fibrils induced clusters of bacteria cells, with the number of dead cells being significantly lower compared to IAPP monomers. Notably, abnormally elongated *E. coli* bacteria were observed in IAPP-treated samples, while this morphological feature was absent from the buffer-treated bacteria. Finally, Aurein 1.2 induced extensive death of bacteria, with the quasi-absence of green-labelled cells.

As observed by fluorescence confocal microscopy, IAPP induced the formation of bacteria clusters, an effect similar to bacteria agglutination that confines bacteria into restricted spaces, ultimately preventing their interaction with the host (Tram *et al.*, 2023). Consequently, we evaluated the capacity of IAPP under its monomeric and fibrillar states to induce the *E. coli* agglutination by following sedimentation of bacteria over time. Interestingly, both amyloid fibrils and monomeric IAPP triggered the clustering of bacteria at a concentration of 25 µg/mL and higher, albeit this process appeared to go faster for the fibrils (**Figure 2.3E**). For instance, at a concentration of 25 µg/mL, pre-assembled fibrils reduced the starting OD value by over 50% after 1 h incubation, whereas the monomer needed more than 2 h to achieve a similar reduction of starting OD value. Similarly to fibrils, increasing the concentration of monomeric IAPP accelerated the sedimentation of bacteria. Interestingly, decreasing the concentration of IAPP monomers to 12.5 µg/mL hindered bacterial agglutination (**Figure 2.3E**). After 8 h incubation, *E.coli* treated with IAPP monomers and amyloid fibrils did not have the same thickness of bacteria-fibrils pellet at the bottom of the cuvette, as depicted in **Figure 2.3F**. The monomer-treated bacteria had a thin layer pellet, and under microscopic examination, the density of bacteria within fibrils was higher. On the contrary, while fibril-treated bacteria

sample had thick layer pellet, with the *E. coli* cells being more dispersed within fibrils. As for untreated *E. coli*, bacteria displayed regular shape and smooth surface, with no presence of abnormally long *E. coli*. Meanwhile, even though *E. coli* incubated with IAPP monomers and fibrils retained the morphology of live bacteria, there are abnormal elongation bacteria with rough surface. Regarding Aurein 1.2, the OD values of the peptide-bacteria mixture decreased at concentrations of 50 µg/mL and higher (**Figure S2.4**). As observed by SEM, Aurein 1.2 killed bacteria, with visible holes on bacterial surfaces observed, leading to the spilling out of the internal components (**Figure S2.5**). Moreover, it is worth noting that agglutination curves of *S. epidermidis* with IAPP monomers and fibrils were almost identical to those of *E. coli* (**Figure S2.6**). This result suggests that bacterial agglutination by IAPP is non-selective between Gram-negative and Gram-positive bacteria and requires a threshold concentration to induce bacteria clustering and sedimentation.

2.5.3 Relationships between the amyloidogenicity of IAPP and its antimicrobial activity

By considering the previous study showing that the antimicrobial activity of Aβ peptide is linked to oligomerization and amyloid self-assembly (Voth *et al.*, 2020) and, along with the above observations, we questioned whether the antimicrobial activity of IAPP correlates with its propensity to self-assemble into amyloid fibrils. To investigate this relationships, *E. coli* bacteria were respectively incubated with different IAPP derivatives having altered amyloidogenicity in aqueous solution (**Figure 2.4A**) (Fortier *et al.*, 2022b; Matveyenko et Butler, 2006; Nguyen *et al.*, 2021; Nguyen *et al.*, 2017). Owing to the presence of three Pro residues within the aggregation-prone 20-29 region, the rodent isoform of IAPP (rIAPP) is non-amyloidogenic. rIAPP had no effect on bacterial metabolic activity even at 400 µg/mL (**Figure S2.7**), nor did it induce membrane leakage or agglutinate bacteria (**Figure 2.4**). This could suggest that the capacity to form amyloid fibrils is necessary for the bacteriostatic effect of IAPP. Besides, F15Aib and L16Aib are analogues with hindered amyloidogenicity, where positions 15 et 16 were substituted with the non-proteinogenic amino acid 2-aminoisobutyric acid (Aib). Although the F15Aib derivative is non-amyloidogenic in aqueous solution (**Figure S2.8**), this peptide exhibited significant antimicrobial activity, even at the lowest concentration investigated (**Figure 2.4B**). In contrast, the growth inhibition of L16Aib was less pronounced than that of IAPP, and there was no statistically significant difference of metabolic activity between them across concentrations. Interestingly, both F15Aib and L16Aib caused significantly leakage of anionic lipid vesicles and did not agglutinate bacteria, regardless of the concentrations evaluated (**Figure 2.4D-2.4F**). Their agglutination profiles resembled to those of IAPP monomers of 12.5

$\mu\text{g/mL}$. This observation suggests that the capacity of IAPP to agglutinate bacteria is dependent of its capacity to self-assemble into amyloid fibrils.

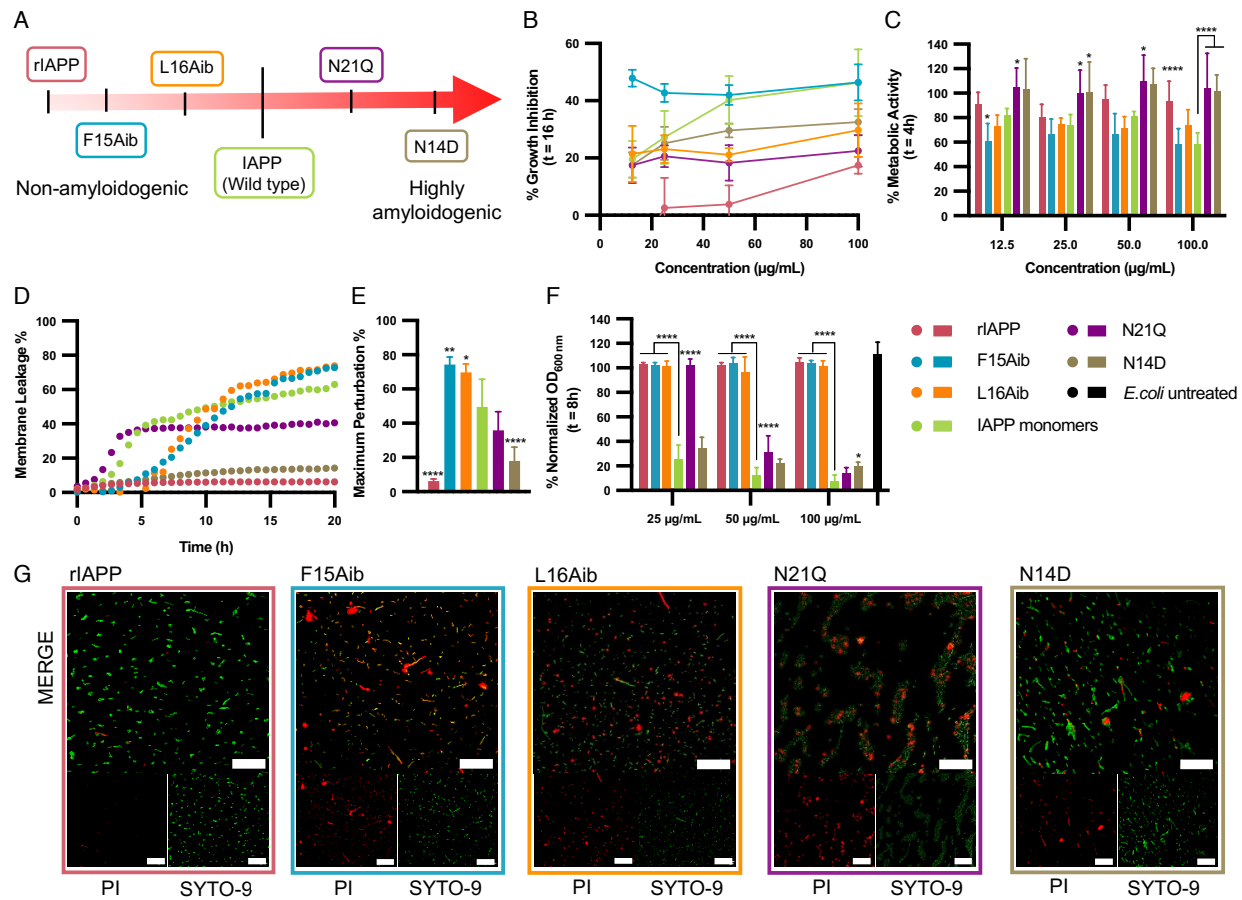


Figure 2. Effect of IAPP amyloidogenicity on its antimicrobial activity. (A) Relative amyloidogenic potential of IAPP analogues. (B) Inhibition of bacterial growth in the presence of IAPP derivatives. (C) Cytotoxicity of IAPP analogues on *E. coli* bacteria after 4 h incubation measured by resazurin reduction. (D) Representative kinetics of calcein leakage from LUVs composed of DOPC:DOPG (80:20) in presence of different peptides at a concentration of 100 $\mu\text{g/mL}$. (E) Mean values of maximum leakage from anionic LUVs extracted from kinetics experiments. (F) Percentage of bacterial agglutination after 8 h incubation in presence of IAPP analogues. (G) Confocal microscopy images after 4 h of incubation with different IAPP analogues at 100 $\mu\text{g/mL}$. Scale bar is 20 μm . (B-F) Data of at least three assays were averaged and expressed as the mean $\pm$ SD. Statistically significant difference between derivatives and IAPP monomers were evaluated by using a two-way (C, F) and an one-way (E) ANOVA with Dunnett's *post hoc* test and are denoted as (*) $p < 0.05$; (**) $p < 0.005$; (***) $p < 0.0005$; (****) $p < 0.0001$.

The highly amyloidogenic derivatives N21Q and N14D, which displayed a reduced amyloid lag-phase (**Figure S2.8**), showed a moderate antimicrobial effect, with growth inhibition similar to the one observed for IAPP fibrils (**Figure 2.4**). Additionally, neither of the aggregation-prone analogues reduced the

metabolic activity of bacteria regardless of peptide concentrations, and both caused minimal membrane leakage. Furthermore, they agglutinated bacteria similarly to unmodified IAPP, except for N21Q at a concentration of 25 µg/mL. Confocal images revealed a negligible number of dead bacteria incubated with 100 µg/mL of rIAPP. Consistent with the resazurin assay, F15Aib induced a sharp increase of red-labelled bacteria. The poorly amyloidogenic peptide L16Aib also induced a significant number of red-labelled dead bacteria. Surprisingly, contrary to resazurin data, N21Q did result in some dead bacteria, though fewer than F15Aib and L16Aib. Finally, N14D showed fewer dead bacteria, like IAPP pre-assembled fibrils. Together, these data suggests that the increasing amyloidogenicity to a certain extent likely reduced the availability of peptide monomers/oligomers in solution by promoting the formation of amyloid fibrils, consequently diminishing membrane lytic activities against bacteria, while not affecting bacteria agglutination. Moreover, bacterial agglutination appears to be governed by peptide self-assembly into amyloid fibrils, as the poorly amyloidogenic analogues rIAPP, F15Aib and L16Aib, failed to sediment bacteria, whereas the highly amyloidogenic analogues N14D and N21Q performed like unmodified IAPP.

2.5.4 Effect of IAPP α -helical folding on its antimicrobial potential

Several AMPs are known to fold into an amphipathic cationic α -helix, which is associated with their abilities to perturb the bacteria plasma membrane (Koehbach et Craik, 2019). Interestingly, IAPP is known to adopt a helical conformation in presence of lipid vesicles, with the positively charged side chains of residues R11 and H18 exposed on the same face of the helix (Patil *et al.*, 2009b). This helical conformation has been shown to contribute to the disruption of anionic lipid bilayers (Brender *et al.*, 2012). As above described, the successive substitutions of residues Phe15 and Leu16 by the unnatural Aib residue, which is known to promote α -helical folding by means of the Thorpe-Ingold effect (Toniolo *et al.*, 2001), reduced dramatically the amyloidogenicity of IAPP while not affecting its antimicrobial activity. Accordingly, we evaluated the contribution of the helical secondary structure of IAPP for its antimicrobial activity by restricting the secondary conformational ensemble of the peptide through targeted chemical modifications. We previously showed that substituting residues Phe15 and Leu16 by their D-enantiomer counterparts (D-IAPP) hindered the formation of a helical conformation (De Carufel *et al.*, 2015). In fact, the incorporation of two successive D-residues within a α -helix-prone sequence has been shown to induce a local structural disturbance, without affecting the net charge nor the hydrophobicity of the peptide (Tchoumi Neree *et al.*, 2014). In contrast, we recently reported that side chain-to-side chain macrocyclization between residues located at positions i , $i + 4$ stabilizes IAPP in a helical conformation and inhibits its aggregation into amyloid fibrils (Babych *et al.*, 2024). In the present study, we used the IAPP derivative stapled between positions

24 and 28 by a triazole linker, c[Pra²⁴Azk²⁸] IAPP. As observed by CD spectroscopy, in absence or in presence of the helical-inducing TFE solvent, c[Pra²⁴Azk²⁸] IAPP exhibited α -helix spectra (**Figure 2.5A**). In sharp contrast, the D-IAPP derivative struggled to adopt helical conformation, even in presence of 15% TFE (**Figure 2.5A, 2.5B**).

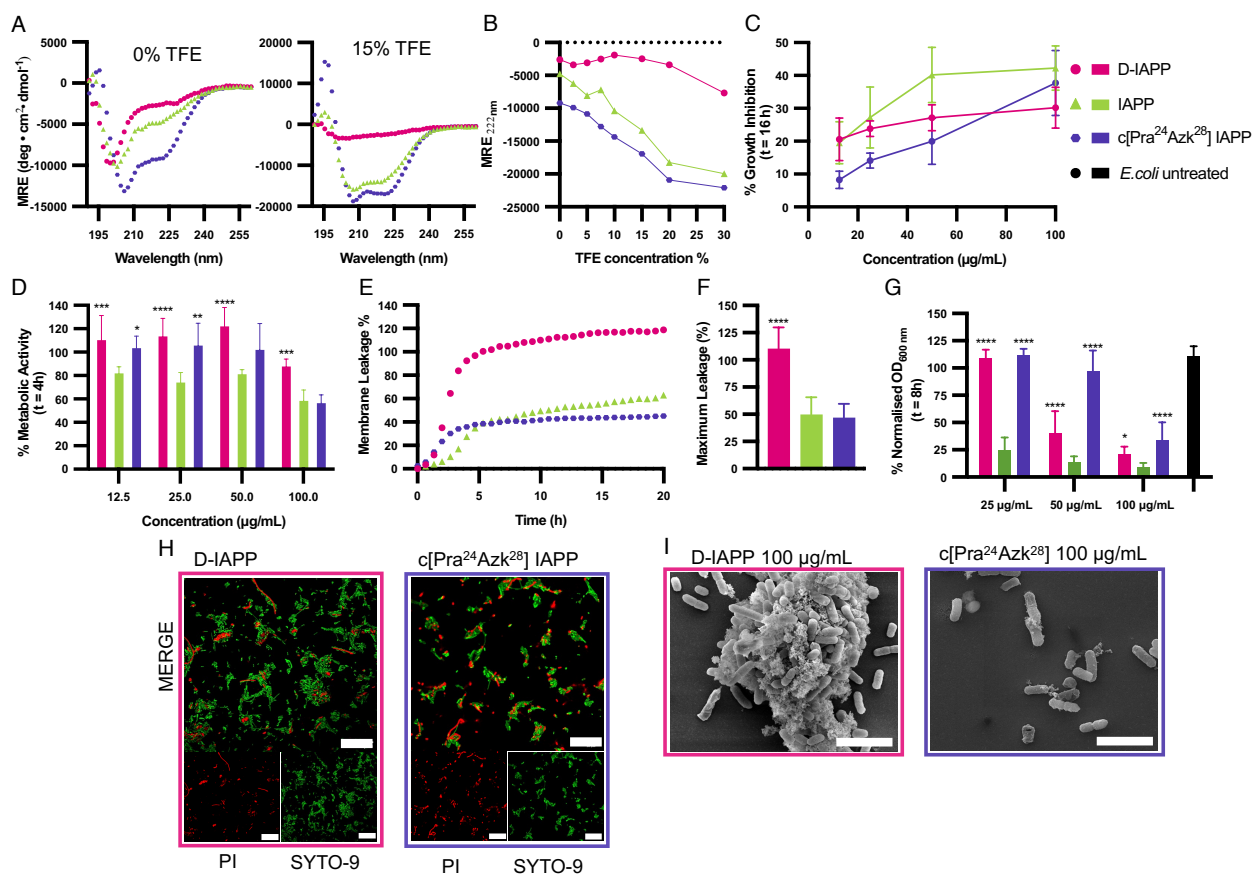


Figure 2. 5 Effect of modulating IAPP helical conformation on the antimicrobial activity. (A) CD spectra of peptides in absence or in presence of 15% TFE (vol%). (B) TFE titration of D-IAPP, IAPP and c[Pra²⁴Azk²⁸]IAPP. (C) Inhibition of bacterial growth in presence of increasing concentration of D-IAPP, IAPP and c[Pra²⁴Azk²⁸]IAPP (D) Cytotoxicity of D-IAPP, IAPP and c[Pra²⁴Azk²⁸]IAPP after 4 h of incubation measured by resazurin reduction. (E) Representative kinetics of calcein leakage from LUVs (DOPC/DOPG, 80/20) in presence of 25 μ M peptides. (F) Mean values of maximum leakage obtained from kinetics of calcein leakage. (G) Percentage of bacterial agglutination in presence of different concentrations of peptides. (H) Confocal microscopy images after 4 h of incubation with 100 μ g/mL peptide derivatives. Scale bar is 20 μ m. (I) SEM images after 8 h of incubation on *E. coli* bacteria, scale bar is 3 μ m. (C-G) Data of at least three assays were averaged and expressed as the mean $\pm$ SD. Statistically significant difference between derivatives and IAPP were evaluated by using a two-way (D & G) and an one-way (F) ANOVA with Dunnett's *post hoc* test and are denoted as (*) $p < 0.05$; (**) $p < 0.005$; (***) $p < 0.0005$; (****) $p < 0.0001$.

Having access to two IAPP analogues with divergent propensity to fold into α -helix structure, we probed the contribution of helical conformation for the antimicrobial activity of IAPP against *E. coli*. D-IAPP did not exhibit robust antimicrobial activities as the peptide showed growth inhibition like those of IAPP fibrils at 100 $\mu\text{g/mL}$ (**Figure 2.5C**). While the helical frustrated D-IAPP peptide slightly reduced bacterial metabolic activity at the highest concentration, it failed to reduce the metabolic activity below a concentration of 100 $\mu\text{g/mL}$, as observed with by the confocal images of D-IAPP resembling to that of IAPP fibrils (**Figure 2.5D, 2.5H**). However, the peptide caused significant disruption of anionic lipid vesicles (**Figure 2.5E, 2.5F**). Furthermore, although D-IAPP induced bacterial agglutination, its efficacy was less than that of IAPP (**Figure 2.5G**). Meanwhile, the helical stapled c[Pra²⁴Azk²⁸]IAPP analogue displayed antimicrobial effects at the highest concentration similar to IAPP. It inhibited bacterial growth, reduced metabolic activity, and disrupted anionic LUVs. Surprisingly, albeit c[Pra²⁴Azk²⁸]IAPP does not assembled into amyloid fibrils in solution, even after 168 h incubation (**Figure S2.9**), it induced bacteria sedimentation at the highest concentrations (**Figure 2.5G**). SEM imaging confirmed that c[Pra²⁴Azk²⁸]IAPP did not form fibrils that clustered the bacteria, while noticeable loss of the morphology of live bacteria could be observed, including loss of cellular content and the appearance of blebs on rough bacterial surface. Regarding D-IAPP, the SEM image showed *E. coli* bacteria adhered to fibrils similarly to IAPP. Bacteria retained their morphology even though some exhibited the abnormal elongated shape (**Figure 2.5I**). Overall, these observations indicate that helical stapling enable the peptide to lyse bacterial membrane, even in absence of fibrillization, and that the antimicrobial activity of IAPP does not necessarily correlate with its capacity to assemble into amyloid fibrils. On the other hand, reducing the propensity of IAPP to adopt a secondary helical conformation, did not inhibit its capacity to permeabilize membranes, indicating that membrane-perturbing capacity of IAPP is not exclusively associated with its helical conformation.

2.6 Discussion

AMPs constitute promising alternative to conventional antibiotics owing to their multiple mechanisms of action targeting key cellular components, which decreases the emergence of antimicrobial resistance (Xuan *et al.*, 2023). Among AMPs identified so far, a small fraction has demonstrated the inherent ability to self-assemble into amyloid-like fibrils (Tian *et al.*, 2015). Although recent studies have highlighted similarities between AMPs and amyloidogenic peptides implicated in protein misfolding diseases, the molecular relationships between those two classes of peptides remain unclear. While the antimicrobial activity of the aggregation-prone peptide hormone IAPP has been previously reported (Wang *et al.*, 2012b), the present study aimed at exploring more in details the relationships between amyloid self-assembly, conformation ensemble and the mechanisms of the antimicrobial effect of amyloidogenic peptides. Three quaternary structures of IAPP, *i.e.* monomers, prefibrillar species and fibrils, were initially evaluated on both Gram-negative (*E. coli*) and Gram-positive (*S. epidermidis*) bacteria. In agreement with the previous study (Wang *et al.*, 2012b), our results showed that IAPP monomers and prefibrillar species slow down the growth of both bacteria, while fibrils were ineffective in reducing their metabolic activity. Thus, the soluble protospecies had the most profound impact on bacteria, likely by promoting interactions with the plasma membrane. Increasing IAPP concentration up to 400 µg/mL did not further reduce bacterial metabolic activity. This observation could be related with the fact that the peptide aggregates faster into insoluble fibrils at high concentrations, a hypothesis that we investigated with derivatives displaying customized amyloidogenic potential. According to EUCAST guidelines, the minimal inhibition concentration (MIC) is defined as the lowest concentration that suppresses the growth after overnight incubation (European Committee for Antimicrobial Susceptibility Testing of the European Society of Clinical et Infectious, 2003). In the present study, all concentrations of IAPP, both monomers and prefibrillar species, did not fully inhibit bacteria growth overnight, indicative of a moderate bacteriostatic effect. Consequently, the MIC of IAPP could not be determined. However, by monitoring growth curves, we were able to observe bacterial growth rate, lag time and maximum OD, which are also important parameters to evaluate antimicrobial potential of AMPs (Berryhill *et al.*, 2023a). While IAPP fibrils appear to slow down bacterial growth by measuring the OD of the solution, no significant antimicrobial effect could be monitored by measuring metabolic activity and by colony counting. Thus, OD measurements should not be used alone to establish the antimicrobial activities of aggregation-prone peptides, as the formation of large aggregates that clump and/or sediment the bacteria can lead to false results.

As reported for numerous cationic AMPs (Frimodt-Møller *et al.*, 2022) and in agreement with the fact that the cytotoxicity of IAPP towards eukaryotic cells is associated with the disruption of the plasma membrane (Janson *et al.*, 1999), IAPP applied under its monomeric isoform readily disrupted anionic LUVs, while amyloid fibrils had not significant effects. Treatment with monomeric IAPP reduced the metabolic activity of bacteria as measured by resazurin reduction, which could be associated with the interference of bacterial respiration (Chen *et al.*, 2018), further pointing towards the plasma membrane disruption to explain the bacteriostatic effect of IAPP. While pre-assembled IAPP amyloid fibrils did not perturb anionic model membranes, these filaments exhibited an interesting alternative bacteriostatic mechanism by trapping bacteria within a confined space. At first glance, this mechanism may appear less potent than membrane perturbation. However, by entrapping bacteria, it restricts bacterial mobility, prevents pathogen adherence to host cell and facilitates their phagocytosis, as previously reported for the human α -defensin 6 and the eosinophil cationic protein (Chu *et al.*, 2012; Torrent *et al.*, 2012b). As revealed by SEM imaging, long and abnormal *E. coli* bacteria were observed in the presence of monomeric IAPP. This change of morphology does not arise from nutrient scarcity, as *E. coli* bacteria maintained their normal shape in absence of IAPP. Therefore, it is probably due to soluble forms of IAPP. In the case of IAPP fibrils, a small fraction of soluble forms can dissociate from fibrils under equilibrium state (Urbic *et al.*, 2017a).

Next, we probed if the bacteriostatic activity of IAPP correlates with its capacity to self-assemble into amyloid fibrils by using a small library of IAPP derivatives that display a range of aggregation kinetics, from non-amyloidogenic to highly amyloidogenic. The sequence from rodent IAPP (rIAPP), which includes three β -breaker prolines within the amyloidogenic 20-29 region (Hoffmann *et al.*, 2018), exhibited no significant antimicrobial properties. This observation initially suggested that amyloid aggregation is a prerequisite for the antimicrobial activity of IAPP. This result contrasts with a previous study showing that rIAPP can inhibit the growth of the Gram-negative bacteria *Paracoccus denitrificans* (*P. denitrificans*) (Last et Miranker, 2013). This difference could be related to the fact that the plasma membrane of *P. denitrificans* is significantly more anionic than that of *E. coli*. Specifically, *P. denitrificans* contains 52% anionic phospholipids (Jarman *et al.*, 2021b), whereas *E. coli* has 24% anionic phospholipids (Matsuzaki *et al.*, 1997). Moreover, rIAPP can induce significant membrane leakage at higher concentrations when LUVs are entirely composed of anionic phospholipids (Cao *et al.*, 2013b; Last et Miranker, 2013). Nonetheless, it was reported that the oligomers assembled from rIAPP, in contrast to those assembled from IAPP, were poorly toxic to eukaryotic cells, indicating that not all oligomers are cytotoxic and that specific structural motifs modulate toxicity (Cao *et al.*, 2013c; Gurlo *et al.*, 2010a). In sharp contrast, the F15Aib and L16Aib

analogues, which are unable to assemble into amyloid aggregates, showed comparable antimicrobial activity to the unmodified IAPP and both peptides disrupted anionic LUVs. Notably, in agreement with their poor amyloidogenicity, these two peptides failed to induce the agglutination of *E. coli*. These observations indicate that the ability to self-assemble into amyloid fibrils is not an absolute prerequisite for the antimicrobial activity of IAPP. On the other hand, while the N14D IAPP derivative showed high amyloidogenicity and a robust capacity to agglutinate bacteria, it had negligible effect on bacterial metabolic activity and induced moderate damage to bacterial plasma membrane, as observed by confocal microscopy. Similarly, the N21Q derivative failed to reduce significantly bacterial metabolic activity, possibly because the peptide aggregates too quickly into insoluble fibrils. The absence of a decrease of metabolic activity could be explained by the bacteria being able to repair their membrane following partial damage (Willdig et al., 2021b). Overall, these observations indicate that if IAPP aggregates too promptly into insoluble fibrils, its bacteriostatic effect remains negligible, revealing that the antimicrobial potential of IAPP necessitates a moderate aggregation process.

While the antimicrobial effect of IAPP is associated with the presence of soluble protofibrils and it is known that IAPP can form transmembrane helical pores (Knight *et al.*, 2006), it is unclear if IAPP folding into α -helix is mandatory for its bacteriostatic effect. Notably, it has been reported for the human antimicrobial peptide LL-37, that the disruption of lipid bilayer involves the formation of toroidal pore mechanism associated with the formation of transmembrane helical oligomers (Henzler Wildman *et al.*, 2003). To investigate this question, we took advantage of two IAPP derivatives with divergent helical folding capacity. D-IAPP, an analogue with restricted ability to adopt α -helix secondary structure that assembles promptly into amyloid fibrils, showed a similar capacity to perturb anionic LUVs and a limited effect on the metabolic activity of *E. coli*. These observations suggest that helical folding could contribute to the antimicrobial effect of IAPP. Stabilization of IAPP helical conformation by side chain-to-side chain macrocyclization, which inhibits amyloid self-assembly, reduced the antimicrobial potency at lower concentrations, with growth inhibition and metabolic activity less effective than unmodified IAPP. Nonetheless, c[Pra²⁴Azk²⁸] IAPP retained antimicrobial activities at high concentrations. At 100 μ g/mL, c[Pra²⁴Azk²⁸] caused significant morphological changes in *E. coli*, including the appearance of blebs, a hallmark of antimicrobial peptides acting via carpet model (Shai, 2002). This mechanism requires a high concentration to cover bacterial membrane surface, leading to disruption. Notably, a computational study has suggested that the helical 14-27 segment of IAPP inserts perpendicularly into the lipid bilayer, before the quaternary conversion of IAPP into helical pentameric pores (Pannuzzo *et al.*, 2013). Plasma

membrane translocation of soluble IAPP (monomers, prefibrillar species) into the bacteria could lead to cell death, as previously observed for mammalian cells (Gurlo *et al.*, 2010a; Magzoub et Miranker, 2012). In contrast, the poor bacterial uptake of aggregated IAPP could be associated with low antimicrobial activity. However, this hypothesis will need additional investigation.

In conclusion, unlike A β which appears to have a switch-like toxicity on mammalian cells in presence of bacteria without virulence factors (Voth *et al.*, 2020), IAPP does not show such behaviour. In fact, *in vitro* studies where culture cells are incubated with IAPP in absence of bacterial infection showed significant cell death. IAPP aggregates and produces cytotoxic prefibrillar species independently of bacterial infection. It is worth noticing that the concentrations at which IAPP exhibits its antimicrobial activity are also highly toxic to mammalian cells. These concentrations do not help the body to fight infections, which is the role of AMPs. Although IAPP can decrease the growth of bacteria and entrap bacteria within amyloid filaments to prevent bacterial adherence and spreading, the antimicrobial effects of IAPP remain limited and do not recapitulate the potency of effective AMPs. AMPs are part of the host immune system and are designed to target bacteria, without damaging the host cells, in contrast to IAPP whose aggregation is known to be toxic to human cells. While interesting at first sight, the antimicrobial potential of self-assembling amyloidogenic peptides, such as IAPP, should be considered with precaution and should not be overgeneralized to all amyloid-prone polypeptides.

2.7 Supplementary data

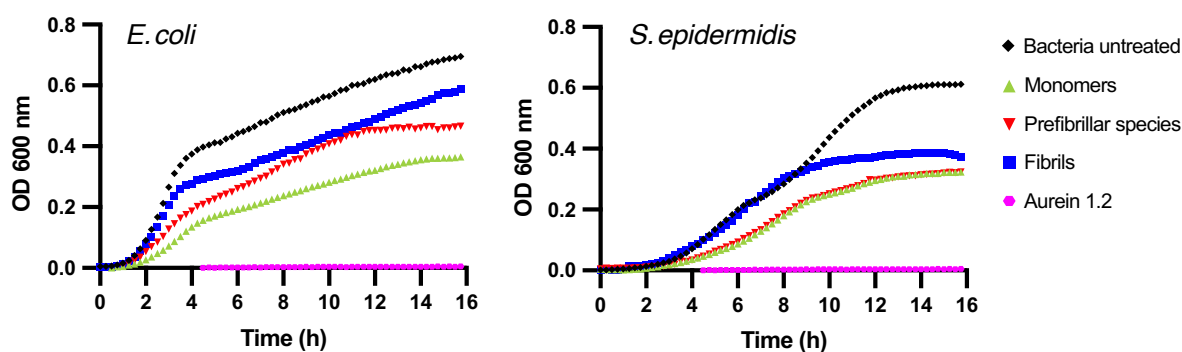


Figure S2. 1 Bacterial growth curves in present of different quaternary structures of IAPP. Bacteria were incubated with 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ of IAPP and Aurein 1.2 in MHB. The control is peptide-free bacteria sample. The curve is representative of at least three assays. The OD_{600 nm} values were normalized to the sterility control.

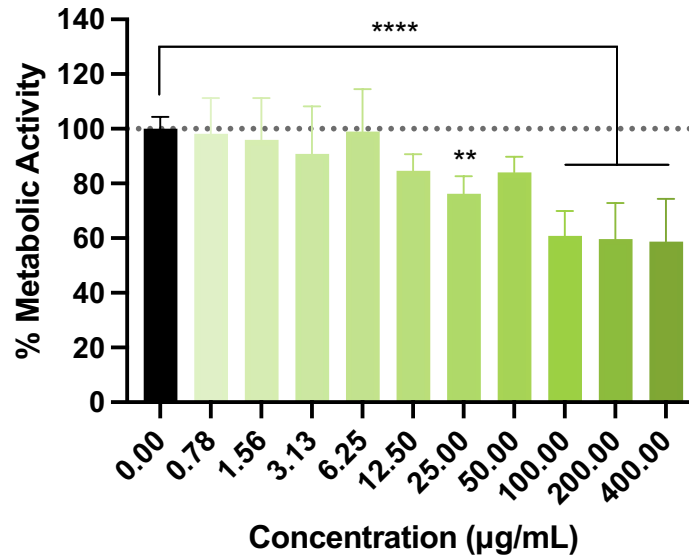


Figure S2. 2 Metabolic activity of *E. coli* incubated with IAPP monomers. Cytotoxicity of IAPP on *E. coli* by the resazurin reduction assay for 4 hours of incubation. Data of at least three assays were averaged and expressed as the mean $\pm$ SD. Statistically significant differences were evaluated using a one-way ANOVA with *Dunnett's post hoc* and are denoted as (*) $p < 0.05$; (**) $p < 0.005$; (***) $p < 0.0005$; (****) $p < 0.0001$.

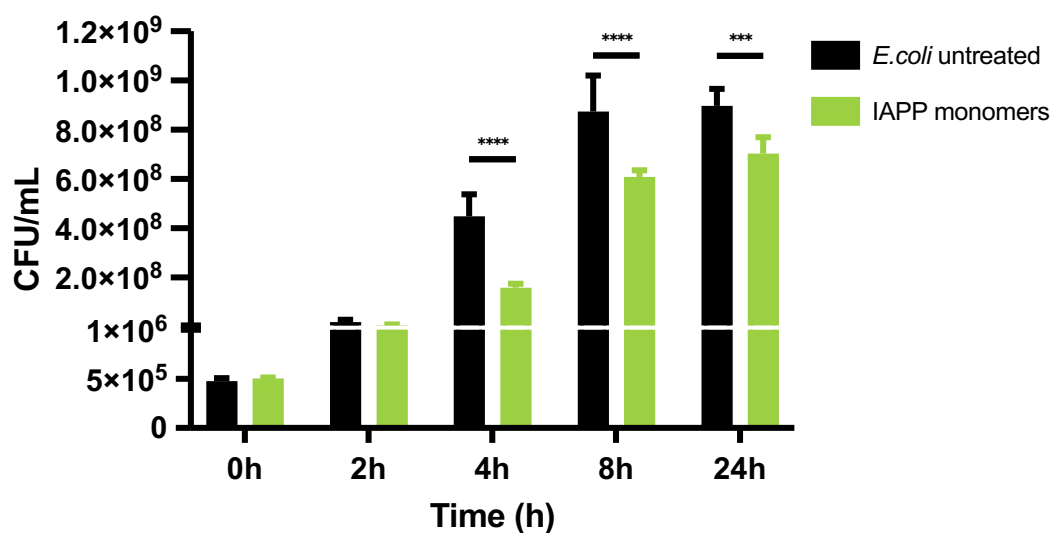


Figure S2. 3 Effect of IAPP monomers on viable *E.coli* colonies overtime. The control is peptide-free bacteria sample. The number of CFU/ml was determined by counting colonies on Mueller-Hinton agar plates. Data of at least three assays were averaged and expressed as the mean $\pm$ SD. Statistically significant differences were evaluated using a two-way ANOVA with Šidák's *post hoc* test and are denoted as (*) $p < 0.05$; (**) $p < 0.005$; (***) $p < 0.0005$; (****) $p < 0.0001$.

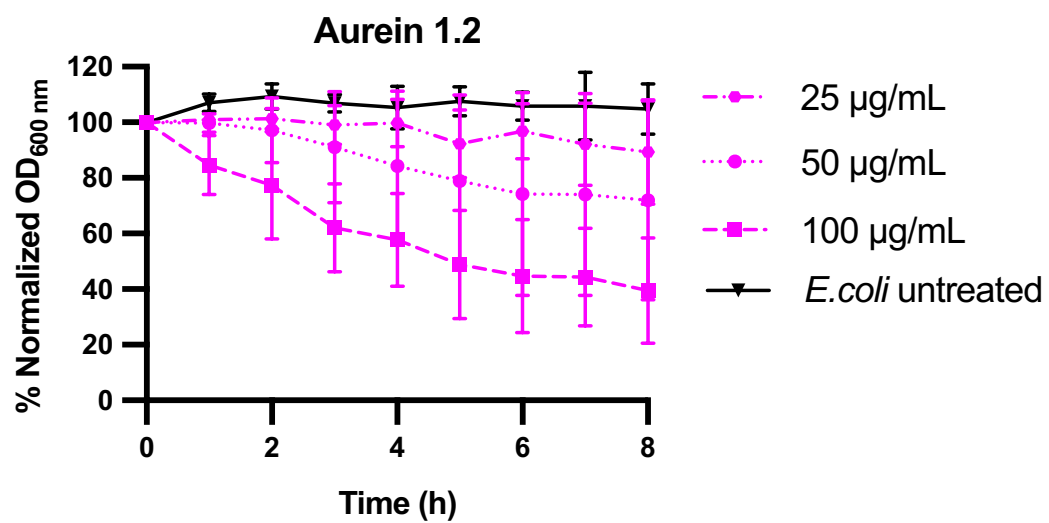


Figure S2. 4 Agglutination curve of *E. coli* with different concentrations of Aurein 1.2.

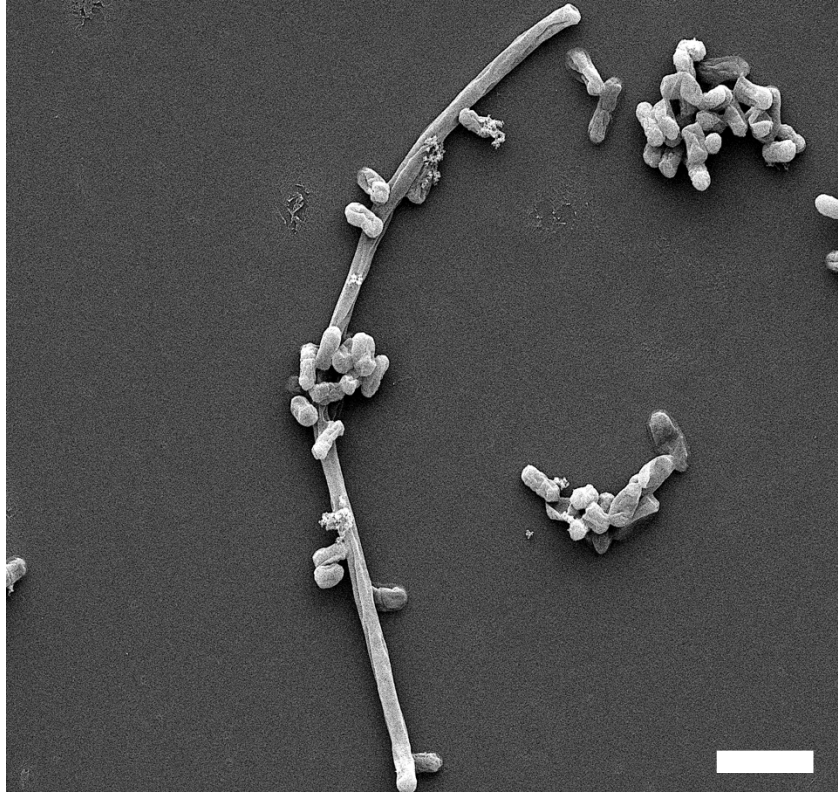


Figure S2. 5 SEM image of Aurein 1.2 at 100 ug/mL after 8 hours of incubation on *E. coli*. Scale bar is 1 μ m.

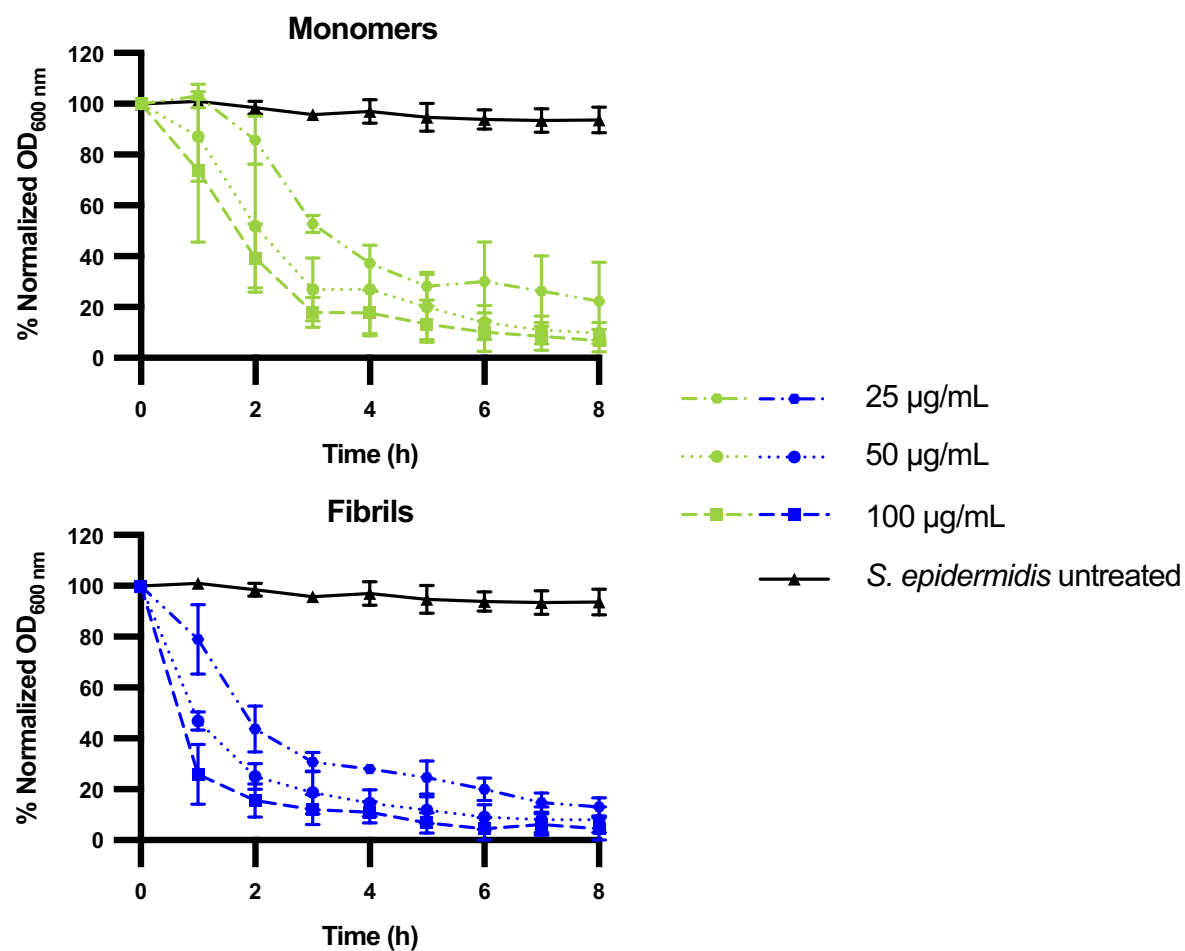


Figure S2. 6 Agglutination curves of *S. epidermidis* with different concentrations of IAPP monomers and amyloid fibrils. Data of at least three assays were averaged and expressed as the mean $\pm$ S.D.

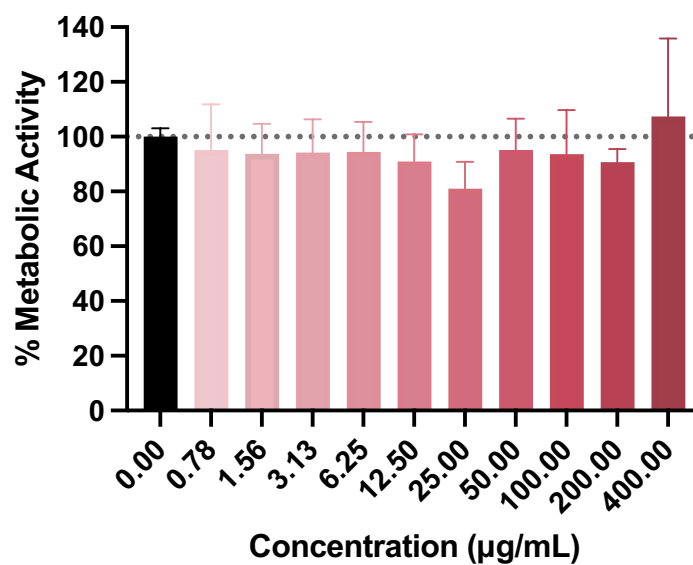


Figure S2. 7 Metabolic activity of *E. coli* incubated with rIAPP. Cytotoxicity of rIAPP on *E.coli* by the resazurin reduction assay for 4 hours of incubation. Data of at least three assays were averaged and expressed as the mean $\pm$ SD. Statistically significant differences were evaluated using a one-way ANOVA with *Dunnett's post hoc* and are denoted as (*) $p < 0.05$; (**) $p < 0.005$; (***) $p < 0.0005$; (****) $p < 0.0001$.

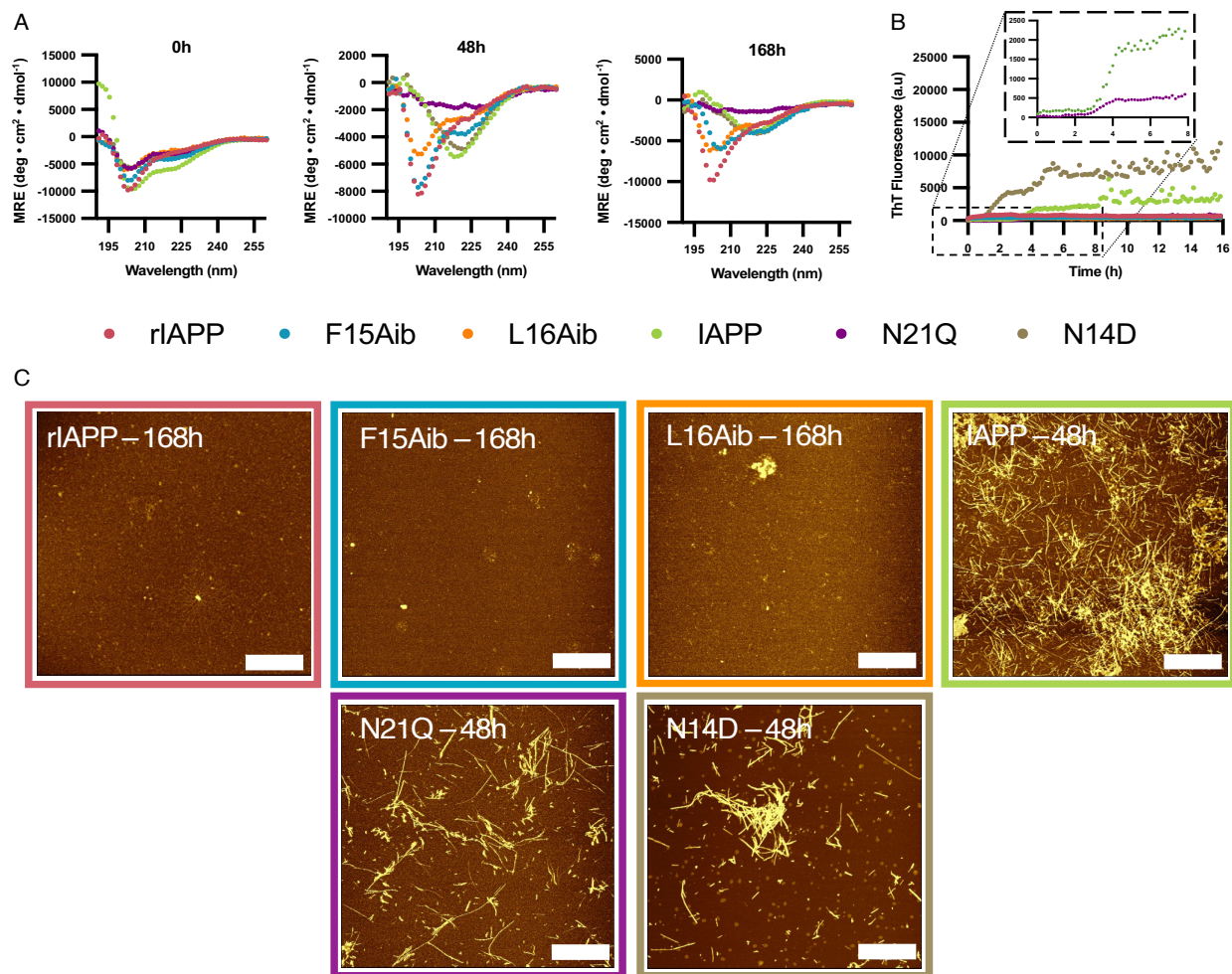


Figure S2. 8 Kinetics of self-assembly of IAPP derivatives. A) Evaluation of secondary structures overtime by CD. B) Representative kinetic curves of amyloid assembly monitored by ThT fluorescence. C) AFM images of IAPP derivatives with hours of incubation indicated, scale bar is 1 μ m. IAPP derivatives were incubated in buffer (20 mM Tris-HCl, pH 7.4 under quiescent conditions at room temperature at 25 μ M for ThT fluorescence and at 50 μ M for CD and AFM. (B-C) Peptides were then diluted at 25 μ M before analysis.

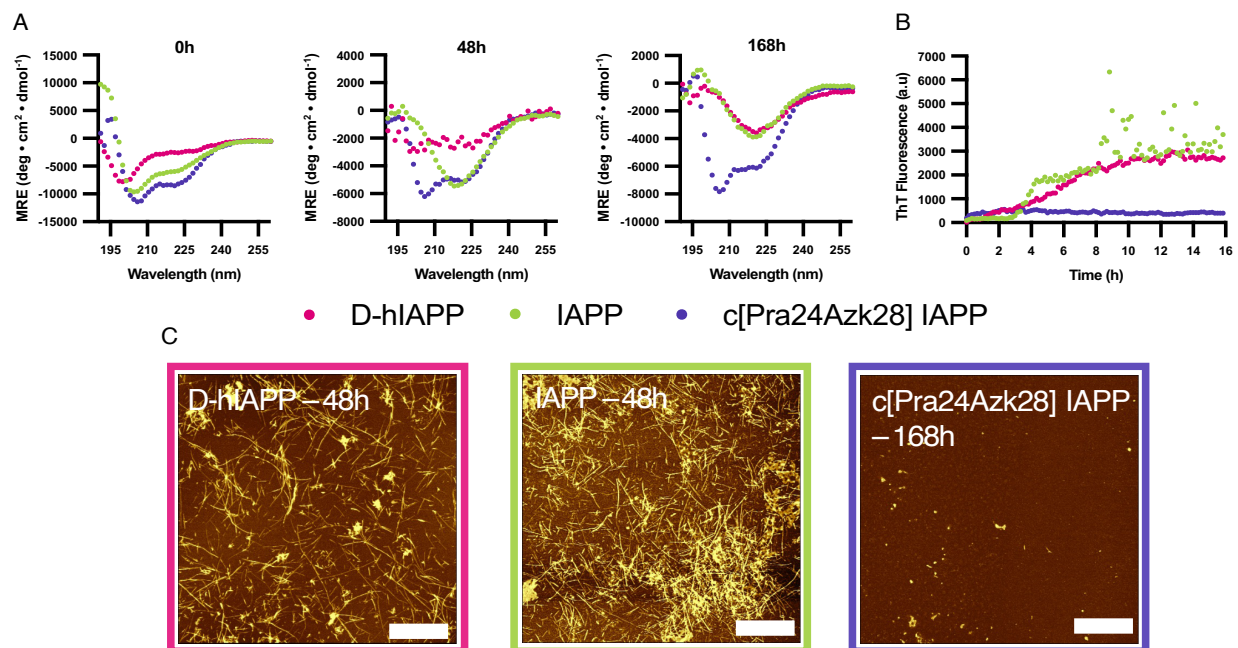


Figure S2. 9 Kinetics of self-assembly of D-IAPP, IAPP & c[Pra24Azk28]. A) Evaluation of secondary structures overtime by CD. B) Representative kinetic curves of amyloid assembly monitored by ThT fluorescence. C) AFM images of IAPP derivatives with hours of incubation indicated, scale bar is 1 μ m. IAPP derivatives were incubated in buffer (20 mM Tris-HCl, pH 7.4 under quiescent conditions at room temperature at 25 μ M for ThT fluorescence and at 50 μ M for CD and AFM. (B-C) Peptides were then diluted at 25 μ M before analysis.

2.8 Acknowledgements

This work was supported by funding from the Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada (NSERC) grants RGPIN-2018-06209 (S.B.) and the Canada Research Chair program (S.B.). We are grateful for Dr. Kiran Kumar for his guidance for confocal microscopy; Dr. Vinay Khatri for technical guidance; Jihane Khalifa, Laetitia Mwadi, and Dr. Nicolo Tonalì for helpful discussions.

CHAPITRE 3

DISCUSSION

Dans une période où la résistance aux antibiotiques est un grand enjeu pour les animaux et les humains, la recherche de nouvelles classes d'antibiotiques demeure une priorité. Parmi les agents antibiotiques, les PAMs représentent une voie alternative et prometteuse dans le combat contre les microorganismes résistants aux antibiotiques conventionnels, notamment grâce à leurs mécanismes d'action ciblant plusieurs composantes cellulaires essentielles, tels que les membranes plasmiques, l'ADN, les protéines et les ribosomes (Le *et al.*, 2017b). Ainsi, ils limitent l'émergence de résistance antimicrobienne (Xuan *et al.*, 2023). Parmi les AMPs identifiés dans la base de données, une minorité d'entre eux possèdent la capacité à s'auto-assembler en nanostructures fibrillaires (Tian *et al.*, 2015). Bien que des études récentes aient relevé des similarités entre les PAMs et les peptides amyloïdogéniques impliqués dans des maladies de mauvais repliement des protéines, tels que l'A β et l' α -synucléine qui présentent des propriétés antimicrobiennes, la relation entre ces deux classes de peptides demeure mal comprise. La tendance, de plus en plus fréquente dans la littérature récente, généralise le potentiel antimicrobien des peptides amyloïdogènes simplement parce qu'ils ressemblent, de manière superficielle, aux PAMs à cause de leur capacité à s'auto-assembler et à perturber les membranes. Certes, il est important de remettre en question cette simplification : ces peptides amyloïdogènes ont-ils réellement un rôle fonctionnel dans la défense de l'hôte, ou leur activité n'est-elle qu'un artefact, dérivé d'une toxicité non-spécifique, incluant via les membranes plasmiques? Dans cette étude, nous avons cherché à démystifier les propriétés antimicrobiennes des peptides amyloïdogènes en exploitant l'IAPP, dont l'agrégation est associé au T2DM et son activité antimicrobienne a déjà été observée par le passé (Wang *et al.*, 2012a). Nous portons une attention particulière aux liens entre l'autoassemblage, l'ensemble conformationnel du peptide et ses effets antimicrobiens.

3.1 Les espèces préfibrillaires présentent une activité antimicrobienne marquée sur les bactéries, contrairement aux fibres.

Trois structures quaternaires de l'IAPP ont été testées sur deux types de bactéries : une Gram-négative (*E. coli*) et une Gram-positive (*S. epidermidis*) à l'aide de méthodes classiques telles que la microdilution, le comptage de bactéries et la viabilité colorimétrique. Nos données, en accord avec une étude antérieure (Wang *et al.*, 2012a), montrent que les monomères et les espèces intermédiaires parviennent à ralentir la croissance des deux types de bactéries, tandis que les fibres n'ont aucun effet sur leur activité métabolique.

Ce sont donc les formes solubles qui semblent exercer un effet antimicrobien plus marqué. Contrairement à nos attentes, l'augmentation de la concentration de l'IAPP jusqu'à 400 µg/mL n'a pas aidé à réduire d'activité métabolique des bactéries. Cela suggère que les concentrations élevées pourraient accélérer la cinétique de l'autoassemblage du peptide, réduisant ainsi la disponibilité des espèces intermédiaires solubles et cytotoxiques. Ceci nous a amené à une nouvelle hypothèse que nous avons exploré en utilisant des analogues aux différents potentiels amyloïdogènes.

Ces résultats nous amènent à un phénomène intéressant. La perte de l'activité antimicrobienne au fur et à mesure que le peptide progresse dans son processus de fibrillation. Il est probable que les espèces solubles de l'IAPP, grâce à leur charge nette positive et leur flexibilité structurale, interagissent avec la membrane bactérienne riche en lipides anioniques, via des interactions électrostatiques et hydrophobes, ce qui facilite leur insertion dans la bicouche lipidique, un mécanisme souvent observé pour de nombreux PAMs cationiques. D'autre part, les fibres sont plus rigides, insolubles et structurellement stabilisées, et ce, compromettant leur capacité à perturber la membrane.

Conformément aux recommandations de l'EUCAST, la MIC correspond à la concentration la plus faible capable d'empêcher la croissance bactérienne après une incubation d'environ 16h (European Committee for Antimicrobial Susceptibility Testing of the European Society of Clinical et Infectious, 2003). Dans notre cas, aucune des structures testées de l'IAPP n'a atteint cette définition stricte. Bien que la croissance bactérienne soit ralentie, elle n'est pas totalement bloquée. Cela traduit un effet bactériostatique modéré. Ainsi, il n'a pas été possible de déterminer la MIC. En revanche, l'analyse des courbes de croissance sur des paramètres souvent négligés dans la littérature, incluant la phase de latence, le rythme de croissance et la densité optique maximale, nous a permis de mieux saisir le potentiel antimicrobien de l'IAPP (Berryhill *et al.*, 2023b).

Les données de croissance en présence des fibres amyloïdes préformées indiquent une baisse de la densité optique à 600 nm. Cependant, cette observation est contredite par le test métabolique et le comptage des colonies. Cette contradiction s'explique probablement par une sédimentation induite par les fibres. En effet, la formation d'agrégats peut piéger et sédimenter les bactéries, interférant avec les mesures et donnant une fausse impression d'activité antimicrobienne. Cela donne l'importance d'utiliser des méthodes supplémentaires pour évaluer l'activité antimicrobienne, qui est souvent biaisée par la turbidité ou la précipitation.

3.2 Les monomères de l'IAPP perturbent les membranes modèles anioniques alors que les fibres piègent les bactéries.

Comme c'est le cas pour de nombreux PAMs cationiques (Frimodt-Moller et al., 2022) et le fait que l'IAPP est cytotoxique pour les cellules eucaryotes via la perturbation membranaire (Janson et al., 1999), cela amène notre attention sur comment l'IAPP agit sur les membranes anioniques et contre les bactéries. Les monomères perturbent efficacement les vésicules lipidiques anioniques. Ils réduisent aussi l'activité métabolique des bactéries, ce qui suggère une interférence avec la respiration cellulaire étant donné qu'elle se situe à la membrane plasmique des bactéries (Chen et al., 2018). Ces observations semblent être cohérentes avec un mécanisme reposant sur la désorganisation de la bicouche lipidique, pouvant mener à une perte de potentiel membranaire, à des fuites ioniques ou à un déséquilibre énergétique.

D'un autre côté, même si elles n'endommagent pas les membranes dû à leur caractéristiques structurales, les fibres amyloïdes matures peuvent présenter un mécanisme différent en immobilisant les bactéries. À première vue, ce mécanisme peut sembler moins puissant que la perturbation membranaire. Cependant, il évoque un mécanisme de défense indirect : en limitant la propagation et l'adhésion aux cellules hôtes et en favorisant l'élimination des bactéries par phagocytose. Ce mécanisme a d'ailleurs été observé pour l'A β (figure 3.1) (Vijaya Kumar et al., 2016) et certains peptides de notre système immunitaire inné, tels que la défense humaine α -6 et la protéine cationique des éosinophiles (Chu *et al.*, 2012; Torrent *et al.*, 2012a).

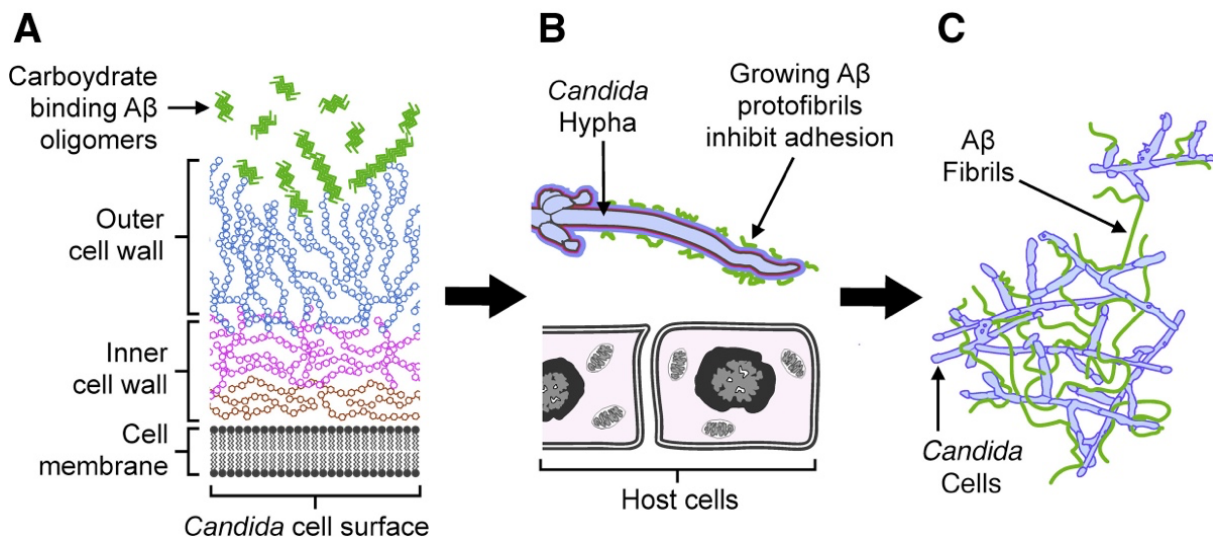


Figure 3.1 Illustration de l'activité d'agglutination des fibres du peptide A β . A) Les espèces oligomériques de l' A β se fixent sur la muréine des bactéries, servant de support de l'agrégation. B) Les peptides interagissent avec la muréine bactérienne afin d'empêcher l'adhésion des bactéries aux cellules de l'hôte.. C) Les fibres, résistantes aux protéases, piègent les bactéries. Figure adaptée de (Moir et al., 2018).

Un autre point à considérer est la présence possible des espèces toxiques solubles, même dans les échantillons des fibres matures. En effet, il est connu que les fibres matures peuvent libérer de petites quantités de formes solubles à l'état d'équilibre (Urbic *et al.*, 2017b). Cela pourrait expliquer la présence des bactéries mortes observées par microscopie confocale.

Par ailleurs, des observations en SEM ont révélé une morphologie anormale des bactéries *E. coli* exposées aux monomères de l'IAPP, avec un allongement marqué. Cette morphologie n'est pas due à une carence en nutriments, étant donné qu'en absence de l'IAPP, les bactéries *E. coli* ont leur morphologie habituelle. Bien que l'origine du phénomène d'élongation bactérienne reste à explorer, une explication possible serait l'augmentation des radicaux libres par l'IAPP. En effet, il a été rapporté que l'IAPP peut induire une surproduction de peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) chez les cellules eucaryotes (Schubert *et al.*, 1995) et que le H_2O_2 est un agent oxydatif capable de provoquer des dommages à l'ADN, de perturber la division cellulaire en activant la réponse SOS et d'induire la filamentation bactérienne (Imlay et Linn, 1987). Cette hypothèse reste à confirmer expérimentalement. Des tests complémentaires tels que la détection directe des espèces réactives de l'oxygène (ROS) à l'aide de sondes fluorogéniques comme le diacétate de 2',7'-dichlorofluorescéine (DCFH-DA) (Hiremath, 2014) et l'analyse de l'expression des protéines (KatG et RecA) liées aux stress par le immunobuvardage (Muehler *et al.*, 2024) pourrait apporter une réponse.

Enfin, bien que les méthodes utilisées dans cette étude, comme le comptage bactérien, le test d'activité métabolique et la microscopie permettent de distinguer les bactéries vivantes ou mortes, elles restent limitées lorsqu'il s'agit de détecter des bactéries ayant des dommages partiels ou sub-létaux. Pour affiner ces observations, il serait pertinent d'utiliser des approches complémentaires telles que la cytométrie en flux, qui permet de distinguer les bactéries vivantes, mortes et endommagées (Pore, 1994), ou des sondes fluorescentes spécifiques comme le N-phenyl-1-naphthylamine (NPN) et l'iodure de propidium (PI), qui permettent d'évaluer plus précisément la perméabilité des membranes externe et interne (Ma *et al.*, 2020).

Bref, cette section renforce l'idée que l'activité antimicrobienne de l'IAPP repose sur des interactions membranaires dynamiques, principalement médiée par ses formes solubles. Les effets d'agglutination observés avec les fibres amyloïdes, bien que non létaux, demeurent néanmoins un second mécanisme d'action intéressant.

3.3 Un auto-assemblage modéré apparaît essentiel pour l'effet antimicrobien.

Pour mieux comprendre la corrélation entre la capacité de fibrillation de l'IAPP et son effet antimicrobien, nous avons exploité une série d'analogues présentant des cinétiques d'agrégation variées, allant de non-amyloïdogène à fortement amyloïdogène. La séquence du rIAPP (du rat), qui contient trois prolines empêchant le peptide d'adopter la structure de feuillet- β dans la région 20-29 (figure 1.4.1), ne présente aucun effet antimicrobien. Cela suggérerait initialement que la fibrillation soit nécessaire à l'activité antimicrobienne de l'IAPP. Notre observation entre en contradiction avec des résultats antérieurs obtenus sur la bactérie *Paracoccus denitrificans* (*P. denitrificans*), pour laquelle le rIAPP inhibe la croissance de ces bactéries (Last et Miranker, 2013). Cette différence pourrait s'expliquer par le fait que les bactéries *P. denitrificans* ont 52% de lipides anioniques dans leur membrane (Jarman *et al.*, 2021a), tandis que les bactéries *E. coli* en contiennent environ 24% (Laydevant *et al.*, 2022; Matsuzaki *et al.*, 1997). De plus, il a été montré que le rIAPP peut induire des fuites membranaires à forte concentration sur des LUVs purement anioniques (Cao *et al.*, 2013a; Last et Miranker, 2013). Alors, l'effet du rIAPP pourrait donc dépendre de la densité de charges négatives à la surface bactérienne, qui influence l'adsorption électrostatique initiale du peptide. Par ailleurs, bien que le rIAPP forme des oligomères, ceux-ci sont très peu toxiques pour les cellules eucaryotes. Cela rappelle que tous les oligomères ne sont pas intrinsèquement toxiques, et que leur effet dépend de motifs structuraux spécifiques (Cao *et al.*, 2013c; Gurlo *et al.*, 2010a).

Les analogues F15Aib et L16Aib, qui sont peu amyloïdogènes via l'introduction du résidu non naturel Aib, ont conservé une activité antimicrobienne comparable à l'IAPP et sont capables de perturber les LUVs. En revanche, ils n'induisent pas d'agglutination bactérienne. Cela suggère que la formation de fibres n'est ni nécessaire, ni suffisante pour exercer une action antimicrobienne. D'un autre côté, les analogues N14D et N21Q, qui présentent une forte propension à former rapidement des fibres, se sont montrés faiblement efficaces pour inhiber l'activité métabolique bactérienne. Cela peut s'expliquer par une cinétique d'agrégation trop rapide, qui réduit la période du temps pendant laquelle les espèces préfibrillaires sont disponibles. Dans le cas du N21Q, des perturbations membranaires ont tout de même été observées en microscopie confocale en fluorescence et avec les LUVs, malgré l'absence d'effet marqué sur le métabolisme. Il est donc possible que ces dommages soient transitoires ou partiellement compensés par des mécanismes de réparation membranaire chez les bactéries (Willdigg et Helmann, 2021a).

Dans l'ensemble, ces observations appuient l'idée qu'une agrégation lente ou modérée permet de maintenir un équilibre entre la solubilité et la structure. Un équilibre nécessaire pour optimiser l'interaction avec la membrane bactérienne, et probablement sa perturbation subséquente. Ni l'absence complète d'assemblage, ni une auto-association trop rapide ne semblent propices à une activité optimale. Ce modèle fait rappel aux observations faites avec l'A β , où les formes intermédiaires sont à la fois les plus toxiques pour les neurones et les plus actives contre certaines bactéries dans des conditions spécifiques (Kumar et al., 2016; Soscia et al., 2010b; Voth et al., 2020).

3.4 La dynamique des structures secondaires de l'IAPP est critique pour la perturbation membranaire.

Après avoir mis en évidence le rôle des formes solubles dans l'activité antimicrobienne de l'IAPP, nous avons voulu explorer si une conformation secondaire particulière, notamment l'hélice- α , pouvait contribuer à cette activité. Il a été montré que l'IAPP peut former les pores transmembranaires hélicoïdaux (Knight et al., 2006). De plus, plusieurs peptides antimicrobiens classiques adoptent une structure hélicoïdale amphipathique en présence de membranes, facilitant leur insertion et la perturbation. C'est le cas du peptide LL-37, un peptide antimicrobien chez l'humain, qui forme des pores toroïdaux via des oligomères riches en hélice- α (Henzler Wildman et al., 2003). Pour explorer cette hypothèse, deux analogues, dont chacun affiche une capacité de repliement différente, ont été testés. L'analogue D-IAPP qui a la structure hélicoïdale compromise par l'introduction des acides aminés D et est très amyloïdogène, a perturbé significativement les LUVs anioniques. Cela suggère qu'une structure non hélicoïdale peut interagir avec les membranes. Cependant, son effet sur l'activité métabolique bactérienne est faible, ce qui suggère qu'une simple perturbation membranaire n'est pas suffisante pour provoquer un effet antimicrobien. De l'autre côté, l'analogue cyclique c[Pra²⁴Azk²⁸] IAPP, qui est stabilisé artificiellement en hélice- α par macrocyclisation et incapable de s'agréger, n'a pas conservé d'activité antimicrobienne à faibles concentrations. Toutefois, à haute concentration (100 μ g/mL), cet analogue a induit des altérations morphologiques chez *E. coli*, telles que la formation de *blebs*. Cette observation est une caractéristique des PAMs ayant le mécanisme de l'extraction des lipides de manière détergente et implique un couvreur complète de la membrane (Shai, 2002).

Des études computationnelles ont suggéré que l'IAPP natif peut former des pores en forme de tonneau (Liu et al., 2012; Sepehri et al., 2021). Ces pores ont une plus grande ouverture que les pores hélicoïdaux (Sepehri et al., 2021). En revanche, une étude de modélisation moléculaire a prédit que la région hélicoïdale 14-27 s'insère perpendiculairement dans la membrane, permettant la formation de pores

pentamériques (Pannuzzo et al., 2013). Alors, l'ajout d'un pont stabilisant cette région pourrait entraver l'auto-association des peptides, ce qui pourrait expliquer la diminution de l'effet antimicrobien.

Par ailleurs, la microscopie électronique a révélé quelques bactéries longues et une morphologie déformée des bactéries *E. coli* exposées à l'analogue D-IAPP. Bien que la cause reste inconnue, une explication possible serait que les peptides D-IAPP forment seulement des pores en forme de tonneau dans la membrane externe des bactéries *E. coli*. Les bactéries continueraient de survivre, mais leur activité métabolique pourrait être réduite dû à un apport nutritionnel compromis (Choi et Lee, 2019). De plus, les bactéries seraient être plus sensibles aux stress car les dommages à la membrane externe activent la signalisation du stress des bactéries (Dalebroux et Miller, 2014). Par conséquent, la prolifération des bactéries diminuerait et la division cellulaire arrêterait (Cho et al., 2023). Ce mécanisme a été observé pour l'antibiotique polymyxine B, qui forme des pores seulement dans la membrane externe (Borrelli et al., 2025; LaPorte et al., 1977; Li et al., 2020). Cette hypothèse reste à confirmer expérimentalement. Le test complémentaire, à l'aide des sondes fluorescentes spécifiques comme le N-phenyl-1-naphthylamine (NPN) et le PI permettrait d'évaluer plus précisément la perméabilité des membranes externe et interne et d'apporter une réponse (Ma et al., 2020).

Bref, nos résultats suggèrent que ce n'est pas une conformation secondaire unique, l'hélicoïdale ou feuillet- β , qui détermine l'activité antimicrobienne de l'IAPP, mais plutôt sa capacité à adopter différentes conformations selon le mécanisme engagé. Lorsqu'il agit via la formation de pores, l'IAPP peut utiliser soit une conformation hélicoïdale (comme le peptide LL-37 forme les pores toroïdaux), soit une organisation en forme de tonneau, comme le prédisent certaines études de modélisation. En revanche, lorsqu'il agit via un mécanisme d'extraction des lipides, le peptide semble maintenir une conformation hélicoïdale, favorisant l'interaction en surface sans insertion transmembranaire. Cette plasticité structurale, couplée à sa capacité à interagir avec les membranes par plusieurs modes d'action, confère à l'IAPP une certaine polyvalence fonctionnelle malgré son absence d'évolution en tant que peptide antimicrobien.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Cette étude a mis en lumière la complexité du comportement de l'IAPP vis-à-vis les bactéries, révélant une activité antimicrobienne modeste mais multifacette, dépendante de sa structure, de son état d'agrégation, et de sa dynamique conformationnelle. Contrairement aux peptides antimicrobiens classiques, l'IAPP ne repose pas sur un seul mécanisme d'action, mais semble plutôt mobiliser différentes stratégies selon sa conformation et son environnement.

Voici les principales observations tirées du travail de recherche du mémoire :

1. Les formes solubles, en particulier les monomères et les espèces préfibrillaires, se sont révélées les plus actives. Elles interagissent avec les membranes bactériennes via au moins deux mécanismes distincts : la formation de pores (possiblement en hélice α ou en forme de tonneau) et l'extraction des lipides, qui ne requiert pas d'insertion mais une couverture membranaire suffisante. Cette capacité à adopter l'un ou l'autre de ces mécanismes suggère que l'IAPP agit de façon adaptative, selon la densité membranaire et la concentration locale.
2. Lorsque l'IAPP s'agrège en fibres, il perd son activité antimicrobienne mais peut exercer une fonction secondaire, en agglutinant les bactéries. Bien que non létal, ce mécanisme pourrait faciliter leur élimination par des cellules immunitaires, comme cela a été observé pour certains PAMs chez l'humain.
3. L'efficacité antimicrobienne de l'IAPP repose donc sur un équilibre dynamique dans son autoassemblage. Une agrégation trop rapide diminue la disponibilité des espèces solubles ; à l'inverse, une absence totale d'autoassemblage prive le peptide de sa capacité à adopter des conformations nécessaires pour l'activité. C'est dans cet entre-deux que l'IAPP semble le plus efficace, ni totalement désordonné, ni irréversiblement fibrillaire.

Bien que les résultats obtenus dans cette étude mettent en lumière l'activité antimicrobienne modérée de l'IAPP, il convient de souligner que cette hormone demeure loin au niveau de l'effet, comparativement aux PAMs *bona fides* classiques. Par exemple, le PAM Aurein 1.2, qui a été utilisé dans cette étude comme contrôle positif, induit une lyse bactérienne complète à une concentration faible. En revanche, l'IAPP n'induit ni une inhibition totale de la croissance bactérienne, ni un effet bactéricide à hautes

concentrations. Cela rend l'IAPP un candidat inadéquat pour l'utilisation thérapeutique directe sur les microorganismes.

Les similarités structurales entre les peptides amyloïdogènes et les PAMs ne doivent pas conduire à une généralisation. Tous les peptides capables de former des fibres amyloïdes ou de perturber les membranes ne sont pas nécessairement des agents du système immunitaire inné. Les observations ici renforcent l'idée que l'IAPP ne peut pas être considéré comme un véritable PAM, mais plutôt comme un peptide amyloïdogène dont les propriétés physico-chimiques peuvent induire, dans certaines conditions, des effets antimicrobiens. Cette distinction est importante, car si l'amyline montre une capacité à perturber les membranes, c'est avant tout en lien avec sa toxicité envers les cellules eucaryotes, et non par une évolution envers la défense immunitaire.

L'IAPP peut être considéré comme un cousin éloigné et mal compris des PAMs. Il n'en fait pas partie à proprement parler, mais il partage certaines caractéristiques structurales et comportementales, qui suffisent d'interférer le système biologique et d'éveiller l'intérêt scientifique. En ce sens, cette étude constitue un appel à la prudence dans la généralisation de l'activité antimicrobienne des peptides amyloïdogènes. Il est peut-être vrai pour l'activité antimicrobienne de l'A β , mais pour ce que ça vaut, l'activité antimicrobienne d'un peptide amyloïdogène doit être évaluée au cas par cas, en tenant compte des concentrations physiologiques et des effets secondaires potentiels.

BIBLIOGRAPHIE

Abdallah E (2021) The skin commensal *Staphylococcus epidermidis*, is a boon or bane? *Novel Research in Microbiology Journal* 5: 2021.

Abedini A, Cao P, Plesner A, Zhang J, He M, Derk J, Patil S, Rosario R, Lonier J, Song F, et al. (2018) RAGE binds preamyloid IAPP intermediates and mediates pancreatic β cell proteotoxicity. *Journal of Clinical Investigation* 128: 682-698.

Abedini A, Plesner A, Cao P, Ridgway Z, Zhang J, Tu L-H, Middleton CT, Chao B, Sartori DJ, Meng F, et al. (2016) Time-resolved studies define the nature of toxic IAPP intermediates, providing insight for anti-amyloidosis therapeutics. *eLife* 5: e12977.

Abejew AA, Wubetu GY et Fenta TG (2024) Relationship between Antibiotic Consumption and Resistance: A Systematic Review. *Canadian Journal of Infectious Diseases and Medical Microbiology* 2024: 9958678.

Public Health Agency of Canada. (2024) Dans Canadian Antimicrobial Resistance Surveillance System (CARSS): 2024 Key findings. Récupéré le 2025, 2 Jan de <https://www.canada.ca/en/public-health/services/publications/drugs-health-products/canadian-antimicrobial-resistance-surveillance-system-2024-executive-summary.html#a9>

Akter R, Cao P, Noor H, Ridgway Z, Tu L-H, Wang H, Wong AG, Zhang X, Abedini A, Schmidt AM, et al. (2016a) Islet Amyloid Polypeptide: Structure, Function, and Pathophysiology. *Journal of Diabetes Research* 2016: 2798269.

Akter R, Cao P, Noor H, Ridgway Z, Tu L-H, Wang H, Wong AG, Zhang X, Abedini A, Schmidt AM, et al. (2016b) Islet Amyloid Polypeptide: Structure, Function, and Pathophysiology. *Journal of Diabetes Research* 2016: 2798269.

Allen JL, Kennedy SJ et Shaw LN (2022) Chapter Six - Colorimetric assays for the rapid and high-throughput screening of antimicrobial peptide activity against diverse bacterial pathogens. Dans *Methods in Enzymology*. Hicks LM, ed, Vol 663. Academic Press.

Álvarez-Martínez FJ, Barrajón-Catalán E et Micol V (2020) Tackling Antibiotic Resistance with Compounds of Natural Origin: A Comprehensive Review. Dans *Biomedicines*.

Andersen DB et Holst JJ (2022) Peptides in the regulation of glucagon secretion. *Peptides* 148: 170683.

Apostolidou M, Jayasinghe SA et Langen R (2008) Structure of α -Helical Membrane-bound Human Islet Amyloid Polypeptide and Its Implications for Membrane-mediated Misfolding *. *Journal of Biological Chemistry* 283: 17205-17210.

Arima Y, Yokota S et Fujitani M (2019) Lateral parabrachial neurons innervate orexin neurons projecting to brainstem arousal areas in the rat. *Scientific Reports* 9: 2830.

Asthana S, Mallick B, Alexandrescu AT et Jha S (2018) IAPP in type II diabetes: Basic research on structure, molecular interactions, and disease mechanisms suggests potential intervention strategies. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes* 1860: 1765-1782.

Babych M, Garelja ML, Nguyen PT, Hay DL et Bourgault S (2024) Converting the Amyloidogenic Islet Amyloid Polypeptide into a Potent Nonaggregating Peptide Ligand by Side Chain-to-Side Chain Macrocyclization. *Journal of the American Chemical Society* 146: 25513-25526.

Baker KR (2022) Light Chain Amyloidosis: Epidemiology, Staging, and Prognostication. *Methodist DeBaKey Cardiovascular Journal*

Balasubramaniam A, Renugopalakrishnan V, Stein M, Fischer JE et Chance WT (1991) Syntheses, structures and anorectic effects of human and rat amylin. *Peptides* 12: 919-924.

Baltutis V, O'Leary PD et Martin LL (2022) Self-Assembly of Linear, Natural Antimicrobial Peptides: An Evolutionary Perspective. *ChemPlusChem* 87: e202200240.

Barakat GM, Ramadan W, Assi G et Khoury NBE (2024) Satiety: a gut–brain–relationship. *The Journal of Physiological Sciences* 74: 11.

Barnhart MM et Chapman MR (2006) Curli Biogenesis and Function. *Annual Review of Microbiology* 60: 131-147.

Bassett EJ, Keith MS, Armelagos GJ, Martin DL et Villanueva AR (1980) Tetracycline-Labeled Human Bone from Ancient Sudanese Nubia (A.D. 350). *Science* 209: 1532-1534.

Berryhill BA, Gil-Gil T, Manuel JA, Smith AP, Margollis E, Baquero F et Levin BR (2023a) What's the Matter with MICs: Bacterial Nutrition, Limiting Resources, and Antibiotic Pharmacodynamics. *Microbiology Spectrum* 11: e0409122.

Berryhill BA, Gil-Gil T, Manuel JA, Smith AP, Margollis E, Baquero F et Levin BR (2023b) What's the Matter with MICs: Bacterial Nutrition, Limiting Resources, and Antibiotic Pharmacodynamics. *Microbiol Spectr* 11: e0409122.

Berson JF, Harper DC, Tenza D, Raposo G et Marks MS (2001) Pmel17 Initiates Premelanosome Morphogenesis within Multivesicular Bodies. *Molecular Biology of the Cell* 12: 3451-3464.

Bhattacharjya S, Zhang Z et Ramamoorthy A (2024) LL-37: Structures, Antimicrobial Activity, and Influence on Amyloid-Related Diseases. *Biomolecules* 14: 320.

Bin Hafeez A, Jiang X, Bergen PJ et Zhu Y (2021) Antimicrobial Peptides: An Update on Classifications and Databases. *Int J Mol Sci* 22:

Bishop GM et Robinson SR (2004) Physiological Roles of Amyloid- β and Implications for its Removal in Alzheimer's Disease. *Drugs & Aging* 21: 621-630.

Bissig C, Rochin L et Van Niel G (2016) PMEL Amyloid Fibril Formation: The Bright Steps of Pigmentation. *International Journal of Molecular Sciences* 17: 1438.

Blake AD, Hayes NS, Slater EE et Strader CD (1987) Insulin receptor desensitization correlates with attenuation of tyrosine kinase activity, but not of receptor endocytosis. *Biochemical Journal* 245: 357-364.

Boccia L, Le Foll C et Lutz TA (2020) Noradrenaline signaling in the LPBN mediates amylin's and salmon calcitonin's hypophagic effect in male rats. *The FASEB Journal* 34: 15448-15461.

Borrelli C, Douglas EJA, Riley SMA, Lemonidi AE, Larrouy-Maumus G, Lu W-J, Bonev BB, Edwards AM et Hoogenboom BW (2025) Polymyxin B lethality requires energy-dependent outer membrane disruption. *bioRxiv* 2025.2004.2016.649083.

Bower RL et Hay DL (2016) Amylin structure–function relationships and receptor pharmacology: implications for amylin mimetic drug development. *British Journal of Pharmacology* 173: 1883-1898.

Braissant O, Astasov-Frauenhoffer M, Waltimo T et Bonkat G (2020) A Review of Methods to Determine Viability, Vitality, and Metabolic Rates in Microbiology. *Frontiers in Microbiology* 11:

Brender JR, Salamekh S et Ramamoorthy A (2012) Membrane Disruption and Early Events in the Aggregation of the Diabetes Related Peptide IAPP from a Molecular Perspective. *Accounts of Chemical Research* 45: 454-462.

Brenner M et Hearing VJ (2008) The Protective Role of Melanin Against UV Damage in Human Skin. *Photochemistry and Photobiology* 84: 539-549.

Bruno F, Malvaso A, Canterini S et Bruni AC (2022) Antimicrobial Peptides (AMPs) in the Pathogenesis of Alzheimer’s Disease: Implications for Diagnosis and Treatment. *Antibiotics* 11: 726.

Buccini DF, Cardoso MH et Franco OL (2021) Antimicrobial Peptides and Cell-Penetrating Peptides for Treating Intracellular Bacterial Infections. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology Volume 10 - 2020*:

Butler L et Walker KA (2021) The Role of Chronic Infection in Alzheimer’s Disease: Instigators, Co-conspirators, or Bystanders? *Current Clinical Microbiology Reports* 8: 199-212.

Butler PC, Chou J, Carter WB, Wang Y-N, Bu B-H, Chang D, Chang J-K et Rizza RA (1990) Effects of Meal Ingestion on Plasma Amylin Concentration in NIDDM and Nondiabetic Humans. *Diabetes* 39: 752-756.

Caillon L, Lequin O et Khemtémourian L (2013) Evaluation of membrane models and their composition for islet amyloid polypeptide-membrane aggregation. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes* 1828: 2091-2098.

Calabresi P, Mechelli A, Natale G, Volpicelli-Daley L, Di Lazzaro G et Ghiglieri V (2023) Alpha-synuclein in Parkinson’s disease and other synucleinopathies: from overt neurodegeneration back to early synaptic dysfunction. *Cell Death & Disease* 14: 176.

Cao P, Abedini A, Wang H, Tu L-H, Zhang X, Schmidt AM et Raleigh DP (2013a) Islet amyloid polypeptide toxicity and membrane interactions. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 110: 19279-19284.

Cao P, Abedini A, Wang H, Tu LH, Zhang X, Schmidt AM et Raleigh DP (2013b) Islet amyloid polypeptide toxicity and membrane interactions. *Proc Natl Acad Sci U S A* 110: 19279-19284.

Cao P, Marek P, Noor H, Patsalo V, Tu L-H, Wang H, Abedini A et Raleigh DP (2013c) Islet amyloid: From fundamental biophysics to mechanisms of cytotoxicity. *FEBS Letters* 587: 1106-1118.

Cardoso MH, Meneguetti BT, Costa BO, Buccini DF, Oshiro KGN, Preza SLE, Carvalho CME, Migliolo L et Franco OL (2019) Non-Lytic Antibacterial Peptides That Translocate Through Bacterial Membranes to Act on Intracellular Targets. *International Journal of Molecular Sciences* 20: 4877.

Chairatana P et Nolan EM (2017) Human α -Defensin 6: A Small Peptide That Self-Assembles and Protects the Host by Entangling Microbes. *Accounts of Chemical Research* 50: 960-967.

Chapman I, Parker B, Doran S, Feinle-Bisset C, Wishart J, Strobel S, Wang Y, Burns C, Lush C, Weyer C, et al. (2005) Effect of pramlintide on satiety and food intake in obese subjects and subjects with type 2 diabetes. *Diabetologia* 48: 838-848.

Chatani E et Yamamoto N (2018) Recent progress on understanding the mechanisms of amyloid nucleation. *Biophysical Reviews* 10: 527-534.

Chatterjee D, Jacob RS, Ray S, Navalkar A, Singh N, Sengupta S, Gadhe L, Kadu P, Datta D, Paul A, et al. (2022) Co-aggregation and secondary nucleation in the life cycle of human prolactin/galanin functional amyloids. *eLife* 11: e73835.

Chen D, Liu X, Chen Y et Lin H (2022) Amyloid peptides with antimicrobial and/or microbial agglutination activity. *Applied Microbiology and Biotechnology* 106: 7711-7720.

Chen JL, Steele TWJ et Stuckey DC (2018) Metabolic reduction of resazurin; location within the cell for cytotoxicity assays. *Biotechnology and Bioengineering* 115: 351-358.

Chen N et Jiang C (2023) Antimicrobial peptides: Structure, mechanism, and modification. *European Journal of Medicinal Chemistry* 255: 115377.

Chen Y et Yu Y (2023) Tau and neuroinflammation in Alzheimer's disease: interplay mechanisms and clinical translation. *Journal of Neuroinflammation* 20: 165.

Cho THS, Pick K et Raivio TL (2023) Bacterial envelope stress responses: Essential adaptors and attractive targets. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research* 1870: 119387.

Choi U et Lee C-R (2019) Distinct Roles of Outer Membrane Porins in Antibiotic Resistance and Membrane Integrity in Escherichia coli. *Frontiers in Microbiology Volume 10 - 2019*:

Chu H, Pazgier M, Jung G, Nuccio S-P, Castillo PA, Jong MF, Winter MG, Winter SE, Wehkamp J, Shen B, et al. (2012) Human α -defensin 6 promotes mucosal innate immunity through self-assembled peptide nanonets. *Science (New York, NY)* 337: 477-481.

Chung KT (2016) Azo dyes and human health: A review. *J Environ Sci Health C Environ Carcinog Ecotoxicol Rev* 34: 233-261.

Conly JM (2004) Antimicrobial resistance - Judicious use is the key. *Can J Infect Dis Med Microbiol* 15: 249-251.

Cooper GJ, Willis AC, Clark A, Turner RC, Sim RB et Reid KB (1987) Purification and characterization of a peptide from amyloid-rich pancreases of type 2 diabetic patients. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 84: 8628-8632.

da Silva DC, Fontes GN, Erthal LCS et Lima LMTR (2016) Amyloidogenesis of the amylin analogue pramlintide. *Biophysical Chemistry* 219: 1-8.

Dalebroux ZD et Miller SI (2014) Salmonellae PhoPQ regulation of the outer membrane to resist innate immunity. *Current Opinion in Microbiology* 17: 106-113.

Dasopang ES, Hasanah F, Bakri TK et Isma M (2019) Comparative Effectiveness Study of Chloramphenicol and Ceftriaxone in the Treatment of Typhoid Fever in Children Admitted to Putri Hijau Kesdam I/Bb Hospital Medan. *Open Access Maced J Med Sci* 7: 3847-3851.

Davies J et Davies D (2010) Origins and evolution of antibiotic resistance. *Microbiol Mol Biol Rev* 74: 417-433.

De Carufel CA, Nguyen PT, Sahnouni S et Bourgault S (2013) New insights into the roles of sulfated glycosaminoglycans in islet amyloid polypeptide amyloidogenesis and cytotoxicity. *Biopolymers* 100: 645-655.

De Carufel CA, Quittot N, Nguyen PT et Bourgault S (2015) Delineating the Role of Helical Intermediates in Natively Unfolded Polypeptide Amyloid Assembly and Cytotoxicity. *Angewandte Chemie (International Ed in English)* 54: 14383-14387.

Devine DA (2003) Antimicrobial peptides in defence of the oral and respiratory tracts. *Molecular Immunology* 40: 431-443.

Dilawari R, Chaubey GK, Priyadarshi N, Barik M et Parmar N (2025) Antimicrobial peptides: structure, function, mechanism of action and therapeutic applications in human diseases. *Exploration of Drug Science* 3: 1008110.

Dupuis NF, Wu C, Shea J-E et Bowers MT (2009) Human Islet Amyloid Polypeptide Monomers Form Ordered β -hairpins: A Possible Direct Amyloidogenic Precursor. *Journal of the American Chemical Society* 131: 18283-18292.

Easterhoff D, Ontiveros F, Brooks Lauren R, Kim Y, Ross B, Silva Jharon N, Olsen Joanna S, Feng C, Hardy Dwight J, Dunman Paul M, et al. (2013) Semen-Derived Enhancer of Viral Infection (SEVI) Binds Bacteria, Enhances Bacterial Phagocytosis by Macrophages, and Can Protect against Vaginal Infection by a Sexually Transmitted Bacterial Pathogen. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 57: 2443-2450.

Ehlers M, Kock M et Schmidt T (2015) Antimicrobial Resistance in Staphylococci at the Human– Animal Interface. Dans *Antimicrobial Resistance - An Open Challenge*. Ossiprandi MC, ed. IntechOpen. Rijeka.

Ehrlich JC et Ratner IM (1961) Amyloidosis of the islets of Langerhans: a restudy of islet hyalin in diabetic and nondiabetic individuals. *The American journal of pathology* 38: 49.

Elsayad K (2023) What Ancient Egyptian Medicine Can Teach Us. *JCO Global Oncology* e2300146.

Engel MFM, Khemtémourian L, Kleijer CC, Meeldijk HJD, Jacobs J, Verkleij AJ, Kruijff B, Killian JA et Höppener JWM (2008) Membrane damage by human islet amyloid polypeptide through fibril growth at the membrane. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 105: 6033-6038.

Engelberg Y et Landau M (2020) The Human LL-37(17-29) antimicrobial peptide reveals a functional supramolecular structure. *Nature Communications* 11: 3894.

European Committee for Antimicrobial Susceptibility Testing of the European Society of Clinical M et Infectious D (2003) Determination of minimum inhibitory concentrations (MICs) of antibacterial agents by broth dilution. *Clinical Microbiology and Infection* 9: ix-xv.

Evans ML et Chapman MR (2014) Curli biogenesis: Order out of disorder. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research* 1843: 1551-1558.

Feitosa VA, Neves P, Jorge LB, Noronha IL et Onuchic LF (2022) Renal amyloidosis: a new time for a complete diagnosis. *Braz J Med Biol Res* 55: e12284.

Ferguson AV (1991) The area postrema: a cardiovascular control centre at the blood-brain interface? *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology* 69: 1026-1034.

Fiske CH et Subbarow Y (1925) THE COLORIMETRIC DETERMINATION OF PHOSPHORUS. *Journal of Biological Chemistry* 66: 375-400.

Forman MS, Zhukareva V, Bergeron C, Chin SSM, Grossman M, Clark C, Lee VMY et Trojanowski JQ (2002) Signature Tau Neuropathology in Gray and White Matter of Corticobasal Degeneration. *The American Journal of Pathology* 160: 2045-2053.

Fortier M, Côté-Cyr M, Nguyen V, Babych M, Nguyen PT, Gaudreault R et Bourgault S (2022a) Contribution of the 12-17 hydrophobic region of islet amyloid polypeptide in self-assembly and cytotoxicity. *Front Mol Biosci* 9: 1017336.

Fortier M, Côté-Cyr M, Nguyen V, Babych M, Nguyen PT, Gaudreault R et Bourgault S (2022b) Contribution of the 12–17 hydrophobic region of islet amyloid polypeptide in self-assembly and cytotoxicity. *Frontiers in Molecular Biosciences* 9: 1017336.

Fortin J et Benoit-Biancamano M-O (2015) Wildlife sequences of islet amyloid polypeptide (IAPP) identify critical species variants for fibrillization. *Amyloid: the international journal of experimental and clinical investigation: the official journal of the International Society of Amyloidosis* 22: 1-9.

Founou LL, Founou RC et Essack SY (2021) Antimicrobial Resistance in the farm-to-plate Continuum: More Than a Food Safety Issue. *Future Science OA* 7: FSO692.

Frimodt-Moller J, Campion C, Nielsen PE et Lobner-Olesen A (2022) Translocation of non-lytic antimicrobial peptides and bacteria penetrating peptides across the inner membrane of the bacterial envelope. *Curr Genet* 68: 83-90.

Fukuda T, Hirai Y, Maezawa H, Kitagawa Y et Funahashi M (2013) Electrophysiologically identified presynaptic mechanisms underlying amylinergic modulation of area postrema neuronal excitability in rat brain slices. *Brain Research* 1494: 9-16.

Gallardo R, Iadanza MG, Xu Y, Heath GR, Foster R, Radford SE et Ranson NA (2020) Fibril structures of diabetes-related amylin variants reveal a basis for surface-templated assembly. *Nature Structural & Molecular Biology* 27: 1048-1056.

Gan BH, Gaynord J, Rowe SM, Deingruber T et Spring DR (2021) The multifaceted nature of antimicrobial peptides: current synthetic chemistry approaches and future directions. *Chemical Society Reviews* 50: 7820-7880.

Gao M et Winter R (2015) The Effects of Lipid Membranes, Crowding and Osmolytes on the Aggregation, and Fibrillation Propensity of Human IAPP. *Journal of Diabetes Research* 2015: 849017.

Gaynes R (2017) The Discovery of Penicillin—New Insights After More Than 75 Years of Clinical Use. *Emerging Infectious Disease journal* 23: 849.

Gedulin BR, Jodka CM, Herrmann K et Young AA (2006) Role of endogenous amylin in glucagon secretion and gastric emptying in rats demonstrated with the selective antagonist, AC187. *Regulatory Peptides* 137: 121-127.

Gedulin BR, Rink TJ et Young AA (1997) Dose-response for glucagonostatic effect of amylin in rats. *Metabolism* 46: 67-70.

Ghosh P, Vaidya A, Kumar A et Rangachari V (2016) Determination of critical nucleation number for a single nucleation amyloid- β aggregation model. *Mathematical Biosciences* 273: 70-79.

Gillam JE et MacPhee CE (2013) Modelling amyloid fibril formation kinetics: mechanisms of nucleation and growth. *Journal of Physics: Condensed Matter* 25: 373101.

Glenner GG, David Eanes E et Wiley CA (1988) Amyloid fibrils formed from a segment of the pancreatic islet amyloid protein. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 155: 608-614.

Glukhov E, Stark M, Burrows LL et Deber CM (2005) Basis for Selectivity of Cationic Antimicrobial Peptides for Bacterial Versus Mammalian Membranes *. *Journal of Biological Chemistry* 280: 33960-33967.

Goedert M, Spillantini MG, Falcon B, Zhang W, Newell KL, Hasegawa M, Scheres SHW et Ghetti B (2021) Tau Protein and Frontotemporal Dementias. Dans *Frontotemporal Dementias : Emerging Milestones of the 21st Century*. Ghetti B, Buratti E, Boeve B et Rademakers R, eds. Springer International Publishing. Cham.

Goldsbury CS, Cooper GJS, Goldie KN, Müller SA, Saafi EL, Gruijters WTM, Misur MP, Engel A, Aepli U et Kistler J (1997) Polymorphic Fibrillar Assembly of Human Amylin. *Journal of Structural Biology* 119: 17-27.

Gomarasca M, Thaynan FCM, Greune L, Hardwidge Philip R, Schmidt MA et Rüter C (2017) Bacterium-Derived Cell-Penetrating Peptides Deliver Gentamicin To Kill Intracellular Pathogens. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 61: 10.1128/aac.02545-02516.

Gong T, Fu J, Shi L, Chen X et Zong X (2021) Antimicrobial Peptides in Gut Health: A Review. *Frontiers in Nutrition* 8:

Gosztyla ML, Brothers HM et Robinson SR (2018) Alzheimer's Amyloid- β is an Antimicrobial Peptide: A Review of the Evidence. *Journal of Alzheimer's Disease* 62: 1495-1506.

Gouras GK, Olsson TT et Hansson O (2015) β -amyloid Peptides and Amyloid Plaques in Alzheimer's Disease. *Neurotherapeutics* 12: 3-11.

Goyal RK, Guo Y et Mashimo H (2019) Advances in the physiology of gastric emptying. *Neurogastroenterology & Motility* 31: e13546.

Gu X, Schafer NP, Bueno C, Lu W et Wolynes PG (2022) A structural dynamics model for how CPEB3 binding to SUMO2 can regulate translational control in dendritic spines. *PLOS Computational Biology* 18: e1010657.

Gurlo T, Ryazantsev S, Huang C-j, Yeh MW, Reber HA, Hines OJ, O'Brien TD, Glabe CG et Butler PC (2010a) Evidence for Proteotoxicity in β Cells in Type 2 Diabetes: Toxic Islet Amyloid Polypeptide Oligomers Form Intracellularly in the Secretory Pathway. *The American Journal of Pathology* 176: 861-869.

Gurlo T, Ryazantsev S, Huang CJ, Yeh MW, Reber HA, Hines OJ, O'Brien TD, Glabe CG et Butler PC (2010b) Evidence for proteotoxicity in beta cells in type 2 diabetes: toxic islet amyloid polypeptide oligomers form intracellularly in the secretory pathway. *Am J Pathol* 176: 861-869.

Guryanova SV et Ovchinnikova TV (2022) Immunomodulatory and Allergenic Properties of Antimicrobial Peptides. *International Journal of Molecular Sciences* 23: 2499.

Hall C, Yu H et Choi E (2020) Insulin receptor endocytosis in the pathophysiology of insulin resistance. *Experimental & Molecular Medicine* 52: 911-920.

Hanabusa T, Kubo K, Oki C, Nakano Y, Okai K, Sanke T et Nanjo K (1992) Islet amyloid polypeptide (IAPP) secretion from islet cells and its plasma concentration in patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Diabetes Research and Clinical Practice* 15: 89-96.

Hancock REW et Scott MG (2000) The role of antimicrobial peptides in animal defenses. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 97: 8856-8861.

Hay DL, Chen S, Lutz TA, Parkes DG et Roth JD (2015) Amylin: Pharmacology, Physiology, and Clinical Potential. *Pharmacological Reviews* 67: 564-600.

Henzler Wildman KA, Lee D-K et Ramamoorthy A (2003) Mechanism of Lipid Bilayer Disruption by the Human Antimicrobial Peptide, LL-37. *Biochemistry* 42: 6545-6558.

Higham CE, Jaikaran ETAS, Fraser PE, Gross M et Clark A (2000) Preparation of synthetic human islet amyloid polypeptide (IAPP) in a stable conformation to enable study of conversion to amyloid-like fibrils. *FEBS Letters* 470: 55-60.

Hiremath J (2014) Growth Kinetics and Mechanistic Action of Reactive Oxygen Species Released by Silver Nanoparticles from *Aspergillus niger* on *Escherichia coli*.

Hoffmann ARF, Saravanan MS, Lequin O, Killian JA et Khemtёмourian L (2018) A single mutation on the human amyloid polypeptide modulates fibril growth and affects the mechanism of amyloid-induced membrane damage. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes* 1860: 1783-1792.

Hollander PA, Levy P, Fineman MS, Maggs DG, Shen LZ, Strobel SA, Weyer C et Kolterman OG (2003) Pramlintide as an Adjunct to Insulin Therapy Improves Long-Term Glycemic and Weight Control in Patients With Type 2 Diabetes: A 1-year randomized controlled trial. *Diabetes Care* 26: 784-790.

Howard WA, Gibson KL et Dunn-Walters DK (2006) Antibody Quality in Old Age. *Rejuvenation Research* 9: 117-125.

Huan Y, Kong Q, Mou H et Yi H (2020) Antimicrobial Peptides: Classification, Design, Application and Research Progress in Multiple Fields. *Frontiers in Microbiology* 11:

Huang C-j, Lin C-y, Haataja L, Gurlo T, Butler AE, Rizza RA et Butler PC (2007) High Expression Rates of Human Islet Amyloid Polypeptide Induce Endoplasmic Reticulum Stress-Mediated β -Cell Apoptosis, a Characteristic of Humans With Type 2 but Not Type 1 Diabetes. *Diabetes* 56: 2016-2027.

Huang H (2006) Huang, H. W. Molecular mechanism of antimicrobial peptides: the origin of cooperativity. *Biochim. Biophys. Acta* 1758, 1292-1302. *Biochimica et biophysica acta* 1758: 1292-1302.

Huang HW (2000) Action of Antimicrobial Peptides: Two-State Model. *Biochemistry* 39: 8347-8352.

Huang Y-W et Lee H-J (2018) 13 - Cell-penetrating peptides for medical theranostics and targeted drug delivery. Dans *Peptide Applications in Biomedicine, Biotechnology and Bioengineering*. Koutsopoulos S, ed. Woodhead Publishing.

Hughes J, Rees S, Kalindjian S et Philpott K (2011) Principles of early drug discovery. *British Journal of Pharmacology* 162: 1239-1249.

Hutchings MI, Truman AW et Wilkinson B (2019) Antibiotics: past, present and future. *Current Opinion in Microbiology* 51: 72-80.

Imlay JA et Linn S (1987) Mutagenesis and stress responses induced in *Escherichia coli* by hydrogen peroxide. *Journal of Bacteriology* 169: 2967-2976.

Ishak A, Mazonakis N, Spernovasilis N, Akinosoglou K et Tsioutis C (2025) Bactericidal versus bacteriostatic antibacterials: clinical significance, differences and synergistic potential in clinical practice. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 80: 1-17.

Jacob RS, Das S, Ghosh S, Anoop A, Jha NN, Khan T, Singru P, Kumar A et Maji SK (2016) Amyloid formation of growth hormone in presence of zinc: Relevance to its storage in secretory granules. *Scientific Reports* 6: 23370.

Jalleh RJ, Plummer MP, Marathe CS, Umapathysivam MM, Quast DR, Rayner CK, Jones KL, Wu T, Horowitz M et Nauck MA (2025) Clinical Consequences of Delayed Gastric Emptying With GLP-1 Receptor Agonists and Tirzepatide. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 110: 1-15.

Janson J, Ashley RH, Harrison D, McIntyre S et Butler PC (1999) The mechanism of islet amyloid polypeptide toxicity is membrane disruption by intermediate-sized toxic amyloid particles. *Diabetes* 48: 491-498.

Jarman OD, Biner O, Wright JJ et Hirst J (2021a) *Paracoccus denitrificans*: a genetically tractable model system for studying respiratory complex I. *Sci Rep* 11: 10143.

Jarman OD, Biner O, Wright JJ et Hirst J (2021b) *Paracoccus denitrificans*: a genetically tractable model system for studying respiratory complex I. *Scientific Reports* 11: 10143.

Jarrett JT et Lansbury PT (1993) Seeding “one-dimensional crystallization” of amyloid: A pathogenic mechanism in Alzheimer's disease and scrapie? *Cell* 73: 1055-1058.

Jayasinghe SA et Langen R (2005) Lipid membranes modulate the structure of islet amyloid polypeptide. *Biochemistry* 44: 12113-12119.

Kajava AV, Aebi U et Steven AC (2005) The Parallel Superpleated Beta-structure as a Model for Amyloid Fibrils of Human Amylin. *Journal of Molecular Biology* 348: 247-252.

Kang C-I et Song J-H (2013) Antimicrobial Resistance in Asia: Current Epidemiology and Clinical Implications. *Infect Chemother* 45: 22-31.

Kavanagh K et Dowd S (2004) Histatins: antimicrobial peptides with therapeutic potential. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 56: 285-289.

World Animal Protection. (2023) Dans The overuse of antibiotics in farm animals is a by-product of poor animal welfare. Récupéré le 2025, 02 Jan de <https://www.worldanimalprotection.ca/our-work/reports-library/the-overuse-of-antibiotics-in-farm-animals-is-a-by-product-of-poor-animal-welfare/>

Kiriyama Y et Nochi H (2018) Role and Cytotoxicity of Amylin and Protection of Pancreatic Islet β -Cells from Amylin Cytotoxicity. Dans Cells.

Knight JD, Hebda JA et Miranker AD (2006) Conserved and Cooperative Assembly of Membrane-Bound α -Helical States of Islet Amyloid Polypeptide. *Biochemistry* 45: 9496-9508.

Knight JD et Miranker AD (2004) Phospholipid catalysis of diabetic amyloid assembly. *Journal of Molecular Biology* 341: 1175-1187.

Knowles TPJ, Waudby CA, Devlin GL, Cohen SIA, Aguzzi A, Vendruscolo M, Terentjev EM, Welland ME et Dobson CM (2009) An Analytical Solution to the Kinetics of Breakable Filament Assembly. *Science* 326: 1533-1537.

Kobayashi S, Chikushi A, Tougu S, Imura Y, Nishida M, Yano Y et Matsuzaki K (2004) Membrane Translocation Mechanism of the Antimicrobial Peptide Buforin 2. *Biochemistry* 43: 15610-15616.

Koehbach J et Craik DJ (2019) The Vast Structural Diversity of Antimicrobial Peptides. *Trends in Pharmacological Sciences* 40: 517-528.

Koren E, Apte A, Sawant RR, Grunwald J et Torchilin VP (2011) Cell-penetrating TAT peptide in drug delivery systems: Proteolytic stability requirements. *Drug Delivery* 18: 377-384.

Kumar DK, Choi SH, Washicosky KJ, Eimer WA, Tucker S, Ghofrani J, Lefkowitz A, McColl G, Goldstein LE, Tanzi RE, et al. (2016) Amyloid-beta peptide protects against microbial infection in mouse and worm models of Alzheimer's disease. *Sci Transl Med* 8: 340ra372.

Ladram A et Nicolas P (2016) Antimicrobial peptides from frog skin: biodiversity and therapeutic promises. *FBL* 21: 1341-1371.

LaPorte DC, Rosenthal KS et Storm DR (1977) Inhibition of *Escherichia coli* growth and respiration by polymyxin B covalently attached to agarose beads. *Biochemistry* 16: 1642-1648.

Last NB et Miranker AD (2013) Common mechanism unites membrane poration by amyloid and antimicrobial peptides. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 110: 6382-6387.

Látrová K, Havlová N, Večeřová R, Pinkas D, Bogdanová K, Kolář M, Fišer R, Konopásek I, Do Pham DD, Rejman D, et al. (2021) Outer membrane and phospholipid composition of the target membrane affect the antimicrobial potential of first- and second-generation lipophosphonoxins. *Scientific Reports* 11: 10446.

Laydevant F, Mahabadi M, Llido P, Bourgouin J-P, Caron L, Arnold AA, Marcotte I et Warschawski DE (2022) Growth-phase dependence of bacterial membrane lipid profile and labeling for in-cell solid-state NMR applications. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes* 1864: 183819.

Le C-F, Fang C-M et Sekaran SD (2017a) Intracellular Targeting Mechanisms by Antimicrobial Peptides. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 61: 10.1128/aac.02340-02316.

Le C-F, Fang C-M et Sekaran SD (2017b) Intracellular Targeting Mechanisms by Antimicrobial Peptides. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 61: e02340-02316.

Leach KL, Brickner SJ, Noe MC et Miller PF (2011) Linezolid, the first oxazolidinone antibacterial agent. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1222: 49-54.

Lee EY, Srinivasan Y, de Anda J, Nicastro LK, Tükel Ç et Wong GCL (2020) Functional Reciprocity of Amyloids and Antimicrobial Peptides: Rethinking the Role of Supramolecular Assembly in Host Defense, Immune Activation, and Inflammation. *Frontiers in Immunology* 11:

Lernmark A, Bärmeier H, Dube S, Hagopian W, Karlsen AE, Markholst H, Wilson C et Wassmuth R (1990) Molecular analysis of the pathogenesis of beta-cell destruction in insulin-dependent diabetes mellitus. *West J Med* 153: 499-502.

Li B, Yin F, Zhao X, Guo Y, Wang W, Wang P, Zhu H, Yin Y et Wang X (2020) Colistin Resistance Gene mcr-1 Mediates Cell Permeability and Resistance to Hydrophobic Antibiotics. *Frontiers in Microbiology Volume 10 - 2019*:

Li J, Koh J-J, Liu S, Lakshminarayanan R, Verma CS et Beuerman RW (2017) Membrane Active Antimicrobial Peptides: Translating Mechanistic Insights to Design. *Frontiers in Neuroscience 11*:

Li X-L, Chen T, Wong Y-S, Xu G, Fan R-R, Zhao H-L et Chan JCN (2011) Involvement of mitochondrial dysfunction in human islet amyloid polypeptide-induced apoptosis in INS-1E pancreatic beta cells: An effect attenuated by phycocyanin. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology* 43: 525-534.

Lim Y-A, Rhein V, Baysang G, Meier F, Poljak A, J. Raftery M, Guilhaus M, Ittner LM, Eckert A et Götz J (2010) A β and human amylin share a common toxicity pathway via mitochondrial dysfunction. *PROTEOMICS* 10: 1621-1633.

Lima PG, Oliveira JTA, Amaral JL, Freitas CDT et Souza PFN (2021) Synthetic antimicrobial peptides: Characteristics, design, and potential as alternative molecules to overcome microbial resistance. *Life Sciences* 278: 119647.

Liu C, Zhao M, Jiang L, Cheng P-N, Park J, Sawaya MR, Pensalfini A, Gou D, Berk AJ, Glabe CG, et al. (2012) Out-of-register β -sheets suggest a pathway to toxic amyloid aggregates. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 109: 20913-20918.

Llor C et Bjerrum L (2014) Antimicrobial resistance: risk associated with antibiotic overuse and initiatives to reduce the problem. *Therapeutic Advances in Drug Safety* 5: 229-241.

Lorenzo A, Razzaboni B, Weir GC et Yankner BA (1994) Pancreatic islet cell toxicity of amylin associated with type-2 diabetes mellitus. *Nature* 368: 756-760.

Luca S, Yau W-M, Leapman R et Tycko R (2007) Peptide Conformation and Supramolecular Organization in Amylin Fibrils: Constraints from Solid-State NMR. *Biochemistry* 46: 13505-13522.

Ludden C, Coll F, Gouliouris T, Restif O, Blane B, Blackwell GA, Kumar N, Naydenova P, Crawley C, Brown NM, et al. (2021) Defining nosocomial transmission of *Escherichia coli* and antimicrobial resistance genes: a genomic surveillance study. *The Lancet Microbe* 2: e472-e480.

Lupetti A, Brouwer CPJM, Bogaards SJP, Welling MM, de Heer E, Campa M, van Dissel JT, Friesen RHE et Nibbering PH (2007) Human Lactoferrin-Derived Peptide's Antifungal Activities against Disseminated *Candida albicans* Infection. *The Journal of Infectious Diseases* 196: 1416-1424.

Lutz TA (2010) The role of amylin in the control of energy homeostasis. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* 298: R1475-R1484.

Ma B, Fang C, Zhang J, Wang M, Luo X et Hou Z (2020) Contemporaneous Measurement of Outer and Inner Membrane Permeability in Gram-negative Bacteria. *Bio-protocol* 10: e3548.

Maghsoodi F et Chi EY (2022) Antimicrobial activity and mechanism of amyloid-beta aggregates. *Biophysical Journal* 121: 426a.

Magzoub M et Miranker AD (2012) Concentration-dependent transitions govern the subcellular localization of islet amyloid polypeptide. *The FASEB Journal* 26: 1228-1238.

Maji SK, Perrin MH, Sawaya MR, Jessberger S, Vadodaria K, Rissman RA, Singru PS, Nilsson KPR, Simon R, Schubert D, et al. (2009) Functional Amyloids As Natural Storage of Peptide Hormones in Pituitary Secretory Granules. *Science* 325: 328-332.

Manyi-Loh C, Mamphweli S, Meyer E et Okoh A (2018a) Antibiotic Use in Agriculture and Its Consequential Resistance in Environmental Sources: Potential Public Health Implications. *Molecules : A Journal of Synthetic Chemistry and Natural Product Chemistry* 23: 795.

Manyi-Loh C, Mamphweli S, Meyer E et Okoh A (2018b) Antibiotic Use in Agriculture and Its Consequential Resistance in Environmental Sources: Potential Public Health Implications. *Molecules* 23:

Mario Isas J, Pandey NK, Xu H, Teranishi K, Okada AK, Fultz EK, Rawat A, Applebaum A, Meier F, Chen J, et al. (2021) Huntingtin fibrils with different toxicity, structure, and seeding potential can be interconverted. *Nature Communications* 12: 4272.

Martínez-Maldonado A, Ontiveros-Torres MÁ, Harrington CR, Montiel-Sosa JF, Prandiz RG-T, Bocanegra-López P, Sorsby-Vargas AM, Bravo-Muñoz M, Florán-Garduño B, Villanueva-Fierro I, et al. (2021) Molecular Processing of Tau Protein in Progressive Supranuclear Palsy: Neuronal and Glial Degeneration. *Journal of Alzheimer's Disease* 79: 1517-1531.

Matsuzaki K, Sugishita K-i, Harada M, Fujii N et Miyajima K (1997) Interactions of an antimicrobial peptide, magainin 2, with outer and inner membranes of Gram-negative bacteria. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes* 1327: 119-130.

Matveyenko AV et Butler PC (2006) Islet Amyloid Polypeptide (IAPP) Transgenic Rodents as Models for Type 2 Diabetes. *ILAR Journal* 47: 225-233.

Menge BA, Grüber L, Jørgensen SM, Deacon CF, Schmidt WE, Veldhuis JD, Holst JJ et Meier JJ (2011) Loss of Inverse Relationship Between Pulsatile Insulin and Glucagon Secretion in Patients With Type 2 Diabetes. *Diabetes* 60: 2160-2168.

Mercer DK et O'Neil DA (2020) Innate Inspiration: Antifungal Peptides and Other Immunotherapeutics From the Host Immune Response. *Frontiers in Immunology* 11:

Milardi D, Gazit E, Radford SE, Xu Y, Gallardo RU, Caflisch A, Westermark GT, Westermark P, Rosa CL et Ramamoorthy A (2021) Proteostasis of Islet Amyloid Polypeptide: A Molecular Perspective of Risk Factors and Protective Strategies for Type II Diabetes. *Chemical Reviews* 121: 1845-1893.

Mirzabekov TA, Lin MC et Kagan BL (1996) Pore formation by the cytotoxic islet amyloid peptide amylin. *J Biol Chem* 271: 1988-1992.

Moir RD, Lathe R et Tanzi RE (2018) The antimicrobial protection hypothesis of Alzheimer's disease. *Alzheimer's & Dementia* 14: 1602-1614.

Moore CX et Cooper GJS (1991) Co-secretion of amylin and insulin from cultured islet β -cells: Modulation by nutrient secretagogues, islet hormones and hypoglycemic agents. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 179: 1-9.

Morgan DJ, Okeke IN, Laxminarayan R, Perencevich EN et Weisenberg S (2011) Non-prescription antimicrobial use worldwide: a systematic review. *The Lancet Infectious Diseases* 11: 692-701.

Muehler D, Morini S, Geißert J, Engesser C, Hiller K-A, Widbiller M, Maisch T, Buchalla W et Cieplik F (2024) Stress response in *Escherichia coli* following sublethal phenalene-1-one mediated antimicrobial photodynamic therapy: an RNA-Seq study. *Photochemical & Photobiological Sciences* 23: 1573-1586.

Muhammad T, Pastore SF, Good K, Yu WH et Vincent JB (2025) The role of amylin, a gut–brain axis hormone, in metabolic and neurological disorders. *FASEB BioAdvances* 7: e1480.

Munk JK, Ritz C, Flidner FP, Frimodt-Moller N et Hansen PR (2014) Novel method to identify the optimal antimicrobial peptide in a combination matrix, using anoplins as an example. *Antimicrob Agents Chemother* 58: 1063-1070.

Naghavi M et Vollset SE et Ikuta KS et Swetschinski LR et Gray AP et Wool EE et Robles Aguilar G et Mestrovic T et Smith G et Han C, et al. (2024a) Global burden of bacterial antimicrobial resistance 1990–2021: a systematic analysis with forecasts to 2050. *The Lancet* 404: 1199-1226.

Naghavi M et Vollset SE et Ikuta KS et Swetschinski LR et Gray AP et Wool EE et Robles Aguilar G et Mestrovic T et Smith G et Han C, et al. (2024b) Global burden of bacterial antimicrobial resistance 1990–2021: a systematic analysis with forecasts to 2050. *The Lancet* 404: 1199-1226.

Nanga RPR, Brender JR, Vivekanandan S et Ramamoorthy A (2011) Structure and membrane orientation of IAPP in its natively amidated form at physiological pH in a membrane environment. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes* 1808: 2337-2342.

Nature. (2024) Dans A new class of antibiotics is cause for cautious celebration - but the economics must be fixed. Récupéré le 625, 7993 de

Nelson RE, Hyun D, Jezek A et Samore MH (2022) Mortality, Length of Stay, and Healthcare Costs Associated With Multidrug-Resistant Bacterial Infections Among Elderly Hospitalized Patients in the United States. *Clinical Infectious Diseases* 74: 1070-1080.

Neundorff I (2019) Antimicrobial and Cell-Penetrating Peptides: How to Understand Two Distinct Functions Despite Similar Physicochemical Properties. Dans *Antimicrobial Peptides: Basics for Clinical Application*. Matsuzaki K, ed. Springer Singapore. Singapore.

Nguyen PT, Zottig X, Sebastiao M, Arnold AA, Marcotte I et Bourgault S (2021) Identification of transmissible proteotoxic oligomer-like fibrils that expand conformational diversity of amyloid assemblies. *Communications Biology* 4: 939.

Nguyen PT, Zottig X, Sebastiao M et Bourgault S (2017) Role of Site-Specific Asparagine Deamidation in Islet Amyloid Polypeptide Amyloidogenesis: Key Contributions of Residues 14 and 21. *Biochemistry* 56: 3808-3817.

Nibbering PH, Ravensbergen E, Welling MM, van Berkel LA, van Berkel PHC, Pauwels EKJ et Nuijens JH (2001) Human Lactoferrin and Peptides Derived from Its N Terminus Are Highly Effective against Infections with Antibiotic-Resistant Bacteria. *Infection and Immunity* 69: 1469-1476.

Nilsson MR et Raleigh DP (1999) Analysis of amylin cleavage products provides new insights into the amyloidogenic region of human amylin1 1Edited by P. E. Wright. *Journal of Molecular Biology* 294: 1375-1385.

O'Toole GA et Kolter R (1998) Flagellar and twitching motility are necessary for *Pseudomonas aeruginosa* biofilm development. *Molecular Microbiology* 30: 295-304.

Olsson M, K. HM, D. RR, Johan P, Samuel G-M et and Arnelo U (2012) Food intake and meal pattern in IAPP knockout mice with and without infusion of exogenous IAPP. *Scandinavian Journal of Gastroenterology* 47: 191-196.

Opie EL (1901) The relation Of diabetes mellitus to lesions of the Pancreas. Hyaline degeneration of the Islands Of Langerhans. *The Journal of experimental medicine* 5: 527.

Pankey GA et Sabath LD (2004) Clinical relevance of bacteriostatic versus bactericidal mechanisms of action in the treatment of Gram-positive bacterial infections. *Clin Infect Dis* 38: 864-870.

Pannuzzo M, Raudino A, Milardi D, La Rosa C et Karttunen M (2013) α -Helical Structures Drive Early Stages of Self-Assembly of Amyloidogenic Amyloid Polypeptide Aggregate Formation in Membranes. *Scientific Reports* 3: 2781.

Park S-C, Moon JC, Shin SY, Son H, Jung YJ, Kim N-H, Kim Y-M, Jang M-K et Lee JR (2016) Functional characterization of alpha-synuclein protein with antimicrobial activity. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 478: 924-928.

Pastore A, Raimondi F, Rajendran L et Temussi PA (2020) Why does the A β peptide of Alzheimer share structural similarity with antimicrobial peptides? *Communications Biology* 3: 1-7.

Patil SM et Patel P (2021) Bactericidal and Bacteriostatic Antibiotics. Dans *Infections and Sepsis Development*. Neri V, Huang L et Li J, eds. IntechOpen. Rijeka.

Patil SM, Xu S, Sheftic SR et Alexandrescu AT (2009a) Dynamic alpha-helix structure of micelle-bound human amylin. *J Biol Chem* 284: 11982-11991.

Patil SM, Xu S, Sheftic SR et Alexandrescu AT (2009b) Dynamic α -Helix Structure of Micelle-bound Human Amylin. *The Journal of Biological Chemistry* 284: 11982-11991.

Pore RS (1994) Antibiotic susceptibility testing by flow cytometry. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 34: 613-627.

Potes CS, Turek VF, Cole RL, Vu C, Roland BL, Roth JD, Riediger T et Lutz TA (2010) Noradrenergic neurons of the area postrema mediate amylin's hypophagic action. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* 299: R623-R631.

Pratt LA et Kolter R (1998) Genetic analysis of Escherichia coli biofilm formation: roles of flagella, motility, chemotaxis and type I pili. *Molecular Microbiology* 30: 285-293.

Press M, Jung T, König J, Grune T et Höhn A (2018) Protein aggregates and proteostasis in aging: Amylin and β -cell function. *Mechanisms of Ageing and Development* 177:

Prosswimmer T, Heng A et Daggett V (2024) Mechanistic insights into the role of amyloid- β in innate immunity. *Scientific Reports* 14: 5376.

Purcell SH, Chi MM et Moley KH (2012) Insulin-Stimulated Glucose Uptake Occurs in Specialized Cells within the Cumulus Oocyte Complex. *Endocrinology* 153: 2444-2454.

Qu WR, Sun QH, Liu QQ, Jin HJ, Cui RJ, Yang W, Song B et Li BJ (2020) Role of CPEB3 protein in learning and memory: new insights from synaptic plasticity. *Aging (Albany NY)* 12: 15169-15182.

Rahal JJ, Jr. et Simberkoff MS (1979) Bactericidal and bacteriostatic action of chloramphenicol against meningeal pathogens. *Antimicrob Agents Chemother* 16: 13-18.

Rahman MS, Hossain KS, Das S, Kundu S, Adegoke EO, Rahman MA, Hannan MA, Uddin MJ et Pang M-G (2021) Role of Insulin in Health and Disease: An Update. Dans *International Journal of Molecular Sciences*.

Raschig J, Mailänder-Sánchez D, Berscheid A, Berger J, Strömstedt AA, Courth LF, Malek NP, Brötz-Oesterhelt H et Wehkamp J (2017) Ubiquitously expressed Human Beta Defensin 1 (hBD1) forms bacteria-entrapping nets in a redox dependent mode of action. *PLoS pathogens* 13: e1006261.

Ratner RE, Want LL, Fineman MS, Velte MJ, Ruggles JA, Gottlieb A, Weyer C et Kolterman OG (2002) Adjunctive Therapy with the Amylin Analogue Pramlintide Leads to a Combined Improvement in Glycemic and Weight Control in Insulin-Treated Subjects with Type 2 Diabetes. *Diabetes Technology & Therapeutics* 4: 51-61.

Reddy AS, Wang L, Singh S, Ling YL, Buchanan L, Zanni MT, Skinner JL et de Pablo JJ (2010) Stable and Metastable States of Human Amylin in Solution. *Biophysical Journal* 99: 2208-2216.

Rees TA, Hay DL et Walker CS (2021) Amylin antibodies frequently display cross-reactivity with CGRP: characterization of eight amylin antibodies. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* 320: R697-R703.

Rice L, Ecroyd H et van Oijen A (2021) Illuminating amyloid fibrils: Fluorescence-based single-molecule approaches. *Computational and Structural Biotechnology Journal* 19:

Riediger T, Schmid HA, Lutz TA et Simon E (2002) Amylin and glucose co-activate area postrema neurons of the rat. *Neuroscience Letters* 328: 121-124.

Riediger T, Zuend D, Becskei C et Lutz TA (2004) The anorectic hormone amylin contributes to feeding-related changes of neuronal activity in key structures of the gut-brain axis. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* 286: R114-R122.

Rima M, Rima M, Fajloun Z, Sabatier J-M, Bechinger B et Naas T (2021) Antimicrobial Peptides: A Potent Alternative to Antibiotics. *Antibiotics* 10: 1095.

Roan NR, Sandi-Monroy N, Kohgadai N, Usmani SM, Hamil KG, Neidleman J, Montano M, Ständker L, Röcker A, Cavrois M, et al. (2017) Semen amyloids participate in spermatozoa selection and clearance. *eLife* 6: e24888.

Roberts AN, Leighton B, Todd JA, Cockburn D, Schofield PN, Sutton R, Holt S, Boyd Y, Day AJ et Foot EA (1989) Molecular and functional characterization of amylin, a peptide associated with type 2 diabetes mellitus. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 86: 9662-9666.

Röder C, Kupreichyk T, Gremer L, Schäfer LU, Pothula KR, Ravelli RBG, Willbold D, Hoyer W et Schröder GF (2020) Cryo-EM structure of islet amyloid polypeptide fibrils reveals similarities with amyloid- β fibrils. *Nature Structural & Molecular Biology* 27: 660-667.

Rodriguez Camargo DC, Tripsianes K, Buday K, Franko A, Gobl C, Hartmuller C, Sarkar R, Aichler M, Mettenleiter G, Schulz M, et al. (2017) The redox environment triggers conformational changes and aggregation of hIAPP in Type II Diabetes. *Sci Rep* 7: 44041.

Ruberg FL, Grogan M, Hanna M, Kelly JW et Maurer MS (2019) Transthyretin Amyloid Cardiomyopathy: JACC State-of-the-Art Review. *Journal of the American College of Cardiology* 73: 2872-2891.

Sakai T et Morimoto Y (2022) The History of Infectious Diseases and Medicine. *Pathogens* 11: 1147.

Salmond GPC et Welch M (2008) Antibiotic resistance: adaptive evolution. *The Lancet* 372: S97-S103.

Sato H et Feix JB (2006) Peptide–membrane interactions and mechanisms of membrane destruction by amphipathic α -helical antimicrobial peptides. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes* 1758: 1245-1256.

Savitskaya A, Masso-Silva J, Haddaoui I et Enany S (2023) Exploring the arsenal of antimicrobial peptides: Mechanisms, diversity, and applications. *Biochimie* 214: 216-227.

Schleeger M, vandenAkker CC, Deckert-Gaudig T, Deckert V, Velikov KP, Koenderink G et Bonn M (2013) Amyloids: From molecular structure to mechanical properties. *Polymer* 54: 2473-2488.

Schmidt NW et Wong GCL (2013) Antimicrobial peptides and induced membrane curvature: Geometry, coordination chemistry, and molecular engineering. *Current Opinion in Solid State and Materials Science* 17: 151-163.

Schubert D, Behl C, Lesley R, Brack A, Dargusch R, Sagara Y et Kimura H (1995) Amyloid peptides are toxic via a common oxidative mechanism. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 92: 1989-1993.

Sciacca MFM, La Rosa C et Milardi D (2021) Amyloid-Mediated Mechanisms of Membrane Disruption. Dans *Biophysica*.

Semple F, MacPherson H, Webb S, Cox SL, Mallin LJ, Tyrrell C, Grimes GR, Semple CA, Nix MA, Millhauser GL, et al. (2011) Human β -defensin 3 affects the activity of pro-inflammatory pathways associated with MyD88 and TRIF. *European Journal of Immunology* 41: 3291-3300.

Sepehri A, Nepal B et Lazaridis T (2021) Distinct Modes of Action of IAPP Oligomers on Membranes. *Journal of Chemical Information and Modeling* 61: 4645-4655.

Sexton PM, Paxinos G, Kenney MA, Wookey PJ et Beaumont K (1994) In vitro autoradiographic localization of amylin binding sites in rat brain. *Neuroscience* 62: 553-567.

Shai Y (2002) Mode of action of membrane active antimicrobial peptides. *Biopolymers* 66: 236-248.

Silvestre RA, Rodríguez-Gallardo J, Jodka C, Parkes DG, Pittner RA, Young AA et Marco J (2001) Selective amylin inhibition of the glucagon response to arginine is extrinsic to the pancreas. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism* 280: E443-E449.

Simpson D (2013) Management of brain abscesses. II: Antibiotics and computed tomography. *Journal of Clinical Neuroscience* 20: 1675-1681.

Sohlenkamp C et Geiger O (2016) Bacterial membrane lipids: diversity in structures and pathways. *FEMS Microbiology Reviews* 40: 133-159.

Soscia SJ, Kirby JE, Washicosky KJ, Tucker SM, Ingelsson M, Hyman B, Burton MA, Goldstein LE, Duong S, Tanzi RE, et al. (2010a) The Alzheimer's disease-associated amyloid beta-protein is an antimicrobial peptide. *PLoS One* 5: e9505.

Soscia SJ, Kirby JE, Washicosky KJ, Tucker SM, Ingelsson M, Hyman B, Burton MA, Goldstein LE, Duong S, Tanzi RE, et al. (2010b) The Alzheimer's Disease-Associated Amyloid β -Protein Is an Antimicrobial Peptide. *PLOS ONE* 5: e9505.

Spitzer P, Condic M, Herrmann M, Oberstein TJ, Scharin-Mehlmann M, Gilbert DF, Friedrich O, Grömer T, Kornhuber J, Lang R, et al. (2016) Amyloidogenic amyloid- β -peptide variants induce microbial agglutination and exert antimicrobial activity. *Scientific Reports* 6: 32228.

Stocks SM (2004) Mechanism and use of the commercially available viability stain, BacLight. *Cytometry Part A: The Journal of the International Society for Analytical Cytology* 61: 189-195.

Stokes JM, Lopatkin AJ, Lobritz MA et Collins JJ (2019) Bacterial Metabolism and Antibiotic Efficacy. *Cell Metabolism* 30: 251-259.

Strahl H et Errington J (2017) Bacterial Membranes: Structure, Domains, and Function. *Annual Review of Microbiology* 71: 519-538.

Sunde M, Serpell LC, Bartlam M, Fraser PE, Pepys MB et Blake CCF (1997) Common core structure of amyloid fibrils by synchrotron X-ray diffraction¹¹Edited by F. E. Cohen. *Journal of Molecular Biology* 273: 729-739.

Tatar M (2022) The role of A β in Alzheimer's Disease as an Evolutionary Outcome of Optimized Innate Immune Defense. *The Journal of Prevention of Alzheimer's Disease* 9: 580-588.

Tato M, de la Pedrosa EG-G, Cantón R, Gómez-García I, Fortún J, Martín-Davila P, Baquero F et Gomez-Mampaso E (2006) In vitro activity of linezolid against Mycobacterium tuberculosis complex, including multidrug-resistant Mycobacterium bovis isolates. *International Journal of Antimicrobial Agents* 28: 75-78.

Taylor AIP et Staniforth RA (2022) General Principles Underpinning Amyloid Structure. *Frontiers in Neuroscience Volume 16 - 2022*:

Tchoumi Neree A, Nguyen PT, Chatenet D, Fournier A et Bourgault S (2014) Secondary conformational conversion is involved in glycosaminoglycans-mediated cellular uptake of the cationic cell-penetrating peptide PACAP. *FEBS Letters* 588: 4590-4596.

Thal DR, Rüb U, Orantes M et Braak H (2002) Phases of A β -deposition in the human brain and its relevance for the development of AD. *Neurology* 58: 1791-1800.

Theodorakis N, Feretzakis G, Hitas C, Kreouzi M, Kalantzi S, Spyridaki A, Boufeas IZ, Sakagianni A, Paxinou E, Verykios VS, et al. (2024) Antibiotic Resistance in the Elderly: Mechanisms, Risk Factors, and Solutions. Dans *Microorganisms*.

Thorne J, Clark D, Geldenhuys L, More K, Vinson A et Tennankore K (2022) Serum Amyloid A Protein𠄺ssociated Kidney Disease: Presentation, Diagnosis, and Management. *Kidney Medicine* 4:

Tian X, Sun F, Zhou X-R, Luo S-Z et Chen L (2015) Role of peptide self-assembly in antimicrobial peptides. *Journal of Peptide Science: An Official Publication of the European Peptide Society* 21: 530-539.

Toniolo C, Crisma M, Formaggio F et Peggion C (2001) Control of peptide conformation by the Thorpe-Ingold effect (C α -tetrasubstitution). *Peptide Science* 60: 396-419.

Torrent M, Pulido D, Nogues MV et Boix E (2012a) Exploring new biological functions of amyloids: bacteria cell agglutination mediated by host protein aggregation. *PLoS Pathog* 8: e1003005.

Torrent M, Pulido D, Nogués MV et Boix E (2012b) Exploring New Biological Functions of Amyloids: Bacteria Cell Agglutination Mediated by Host Protein Aggregation. *PLoS Pathogens* 8: e1003005.

Tram NDT, Xu J, Mukherjee D, Obanel AE, Mayandi V, Selvarajan V, Zhu X, Teo J, Barathi VA, Lakshminarayanan R, et al. (2023) Bacteria-Responsive Self-Assembly of Antimicrobial Peptide Nanonets for Trap-and-Kill of Antibiotic-Resistant Strains. *Advanced Functional Materials* 33: 2210858.

Travagli RA, Hermann GE, Browning KN et Rogers RC (2006) BRAINSTEM CIRCUITS REGULATING GASTRIC FUNCTION. *Annual Review of Physiology* 68: 279-305.

Uddin TM, Chakraborty AJ, Khusro A, Zidan BMRM, Mitra S, Emran TB, Dhama K, Ripon MKH, Gajdács M, Sahibzada MUK, et al. (2021) Antibiotic resistance in microbes: History, mechanisms, therapeutic strategies and future prospects. *Journal of Infection and Public Health* 14: 1750-1766.

Urbic T, Najem S et Dias CL (2017a) Thermodynamic properties of amyloid fibrils in equilibrium. *Biophysical chemistry* 231: 155-160.

Urbic T, Najem S et Dias CL (2017b) Thermodynamic properties of amyloid fibrils in equilibrium. *Biophys Chem* 231: 155-160.

van der Does Anne M, Bogaards Sylvia JP, Ravensbergen B, Beekhuizen H, van Dissel Jaap T et Nibbering Peter H (2010) Antimicrobial Peptide hLF1-11 Directs Granulocyte-Macrophage Colony-Stimulating Factor-Driven Monocyte Differentiation toward Macrophages with Enhanced Recognition and Clearance of Pathogens. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 54: 811-816.

van der Velden WJFM, van Iersel TMP, Blijlevens NMA et Donnelly JP (2009) Safety and tolerability of the antimicrobial peptide human lactoferrin 1-11 (hLF1-11). *BMC Medicine* 7: 44.

Verma N et Despa F (2023) The association between renal accumulation of pancreatic amyloid-forming amylin and renal hypoxia. *Frontiers in Endocrinology Volume 14 - 2023*:

Vigasova D, Nemergut M, Liskova B et Damborsky J (2021) Multi-pathogen infections and Alzheimer's disease. *Microbial Cell Factories* 20: 25.

Vijaya Kumar DK, Choi SH, Washicosky KJ, Eimer WA, Tucker S, Ghofrani J, Lefkowitz A, McColl G, Goldstein LE, Tanzi RE, et al. (2016) Amyloid- β Peptide Protects Against Microbial Infection In Mouse and Worm Models of Alzheimer's Disease. *Science translational medicine* 8: 340ra372.

Vojtechova I, Machacek T, Kristofikova Z, Stuchlik A et Petrasek T (2022) Infectious origin of Alzheimer's disease: Amyloid beta as a component of brain antimicrobial immunity. *PLOS Pathogens* 18: e1010929.

Voth S, Gwin M, Francis CM, Balczon R, Frank DW, Pittet JF, Wagener BM, Moser SA, Alexeyev M, Housley N, et al. (2020) Virulent *Pseudomonas aeruginosa* infection converts antimicrobial amyloids into cytotoxic prions. *The FASEB Journal* 34: 9156-9179.

Wainwright M et Kristiansen JE (2011) On the 75th anniversary of Prontosil. *Dyes and Pigments* 88: 231-234.

Wanat M, Anthierens S, Butler CC, Savic L, Savic S, Pavitt SH, Sandoe JAT et Tonkin-Crine S (2021) Management of penicillin allergy in primary care: a qualitative study with patients and primary care physicians. *BMC Family Practice* 22: 112.

Wanda CR (2018) An overview of the antimicrobial resistance mechanisms of bacteria. *AIMS Microbiology* 4: 482-501.

Wang G (2023) The antimicrobial peptide database is 20 years old: Recent developments and future directions. *Protein Science* 32:

Wang G, Li X et Wang Z (2015) APD3: the antimicrobial peptide database as a tool for research and education. *Nucleic Acids Research* 44: D1087-D1093.

Wang L, Liu Q, Chen J-C, Cui Y-X, Zhou B, Chen Y-X, Zhao Y-F et Li Y-M (2012a) Antimicrobial activity of human islet amyloid polypeptides: an insight into amyloid peptides' connection with antimicrobial peptides. *Biological Chemistry* 393: 641-646.

Wang L, Liu Q, Chen JC, Cui YX, Zhou B, Chen YX, Zhao YF et Li YM (2012b) Antimicrobial activity of human islet amyloid polypeptides: an insight into amyloid peptides' connection with antimicrobial peptides. *Biol Chem* 393: 641-646.

Wani NA, Gazit E et Ramamoorthy A (2024) Interplay between Antimicrobial Peptides and Amyloid Proteins in Host Defense and Disease Modulation. *Langmuir* 40: 25355-25366.

Watkins HA, Au M et Hay DL (2012) The structure of secretin family GPCR peptide ligands: implications for receptor pharmacology and drug development. *Drug Discovery Today* 17: 1006-1014.

Watkinson-Deane A (2024) From dyes to D-Day: the first antibacterial drugs. *The Bulletin of the Royal College of Surgeons of England* 106: 42-42.

Watnick P et Kolter R (2000) Biofilm, City of Microbes. *Journal of Bacteriology* 182: 2675-2679.

Wattiez A-S, P. SL et and Russo AF (2020) Calcitonin gene-related peptide (CGRP): role in migraine pathophysiology and therapeutic targeting. *Expert Opinion on Therapeutic Targets* 24: 91-100.

Westermarck GT (2011) Physiological and Pathophysiological Role of Islet Amyloid Polypeptide (IAPP, Amylin). Dans *BetaSys: Systems Biology of Regulated Exocytosis in Pancreatic β -Cells*. Boos-Bavnbek B, Klösgen B, Larsen J, Pociot F et Renström E, eds. Springer. New York, NY.

Westermarck P, Engström U, Johnson KH, Westermarck GT et Betsholtz C (1990) Islet amyloid polypeptide: pinpointing amino acid residues linked to amyloid fibril formation. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 87: 5036-5040.

Westermarck P, Wernstedt C, Wilander E, Hayden DW, O'Brien TD et Johnson KH (1987) Amyloid fibrils in human insulinoma and islets of Langerhans of the diabetic cat are derived from a neuropeptide-like protein also present in normal islet cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 84: 3881-3885.

White MR, Kandel R, Tripathi S, Condon D, Qi L, Taubenberger J et Hartshorn KL (2014) Alzheimer's Associated β -Amyloid Protein Inhibits Influenza A Virus and Modulates Viral Interactions with Phagocytes. *PLOS ONE* 9: e101364.

Wickbom J, Herrington MK, Permert J, Jansson A et Arnelo U (2008) Gastric emptying in response to IAPP and CCK in rats with subdiaphragmatic afferent vagotomy. *Regulatory Peptides* 148: 21-25.

Willdigg JR et Helmann JD (2021a) Mini Review: Bacterial Membrane Composition and Its Modulation in Response to Stress. *Front Mol Biosci* 8: 634438.

Willdigg JR et Helmann JD (2021b) Mini Review: Bacterial Membrane Composition and Its Modulation in Response to Stress. *Frontiers in Molecular Biosciences* 8:

Williamson JA, Loria JP et Miranker AD (2009) Helix Stabilization Precedes Aqueous and Bilayer-Catalyzed Fiber Formation in Islet Amyloid Polypeptide. *Journal of Molecular Biology* 393: 383-396.

Williamson JA et Miranker AD (2007) Direct detection of transient α -helical states in islet amyloid polypeptide. *Protein Science : A Publication of the Protein Society* 16: 110.

Wilson WW, Wade MM, Holman SC et Champlin FR (2001) Status of methods for assessing bacterial cell surface charge properties based on zeta potential measurements. *Journal of Microbiological Methods* 43: 153-164.

Wimley WC (2010a) Describing the Mechanism of Antimicrobial Peptide Action with the Interfacial Activity Model. *ACS chemical biology* 5: 905-917.

Wimley WC (2010b) Describing the mechanism of antimicrobial peptide action with the interfacial activity model. *ACS Chem Biol* 5: 905-917.

Wu C et Shea J-E (2013) Structural Similarities and Differences between Amyloidogenic and Non-Amyloidogenic Islet Amyloid Polypeptide (IAPP) Sequences and Implications for the Dual Physiological and Pathological Activities of These Peptides. *PLOS Computational Biology* 9: e1003211.

Xuan J, Feng W, Wang J, Wang R, Zhang B, Bo L, Chen Z-S, Yang H et Sun L (2023) Antimicrobial peptides for combating drug-resistant bacterial infections. *Drug Resistance Updates* 68: 100954.

Xue C, Lin TY, Chang D et Guo Z (2017) Thioflavin T as an amyloid dye: fibril quantification, optimal concentration and effect on aggregation. *Royal Society Open Science* 4: 160696.

Xue W-F, Homans SW et Radford SE (2008) Systematic analysis of nucleation-dependent polymerization reveals new insights into the mechanism of amyloid self-assembly. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 105: 8926-8931.

Young A (2005) Inhibition of Gastric Emptying. Dans *Advances in Pharmacology*. Vol 52. Academic Press.

Young AA, Gedulin BR et Rink TJ (1996) Preliminary report Dose-responses for the slowing of gastric emptying in a rodent model by glucagon-like peptide (7–36)NH₂, amylin, cholecystokinin, and other possible regulators of nutrient uptake. *Metabolism - Clinical and Experimental* 45: 1-3.

Zaichick SV, McGrath KM et Caraveo G (2017) The role of Ca²⁺ signaling in Parkinson's disease. *Disease Models & Mechanisms* 10: 519-535.

Zavascki AP, Goldani LZ, Li J et Nation RL (2007) Polymyxin B for the treatment of multidrug-resistant pathogens: a critical review. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 60: 1206-1215.

Zhang Y, Chen H, Li R, Sterling K et Song W (2023) Amyloid β -based therapy for Alzheimer's disease: challenges, successes and future. *Signal Transduction and Targeted Therapy* 8: 1-26.

Zurenko GE, Yagi BH, Schaadt RD, Allison JW, Kilburn JO, Glickman SE, Hutchinson DK, Barbachyn MR et Brickner SJ (1996) In vitro activities of U-100592 and U-100766, novel oxazolidinone antibacterial agents. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 40: 839-845.