

Protection du protéome cutané grâce à l'activité chaperonne-like d'un extrait d'*Arthrobacter agilis*

F.X. Pellay¹, A. Fontbonne¹, J. Tisserand¹, N. Lecland¹, S. Weber¹, I. Benoit¹, E. Perrier¹, S. Trompezinski¹, A. Guyoux¹
¹NAOS ILS, Aix-en-Provence, France

CONTEXTE

Le protéome est l'ensemble des protéines présentes dans l'organisme à un instant T, qui jouent un rôle majeur dans le bon fonctionnement des cellules, des tissus et de l'organisme. Par exemple, les protéines extracellulaires (comme le collagène, l'élastine) ont des rôles structuraux garantissant la cohésion et l'élasticité de la peau, d'autres protéines protègent les tissus contre les agents pathogènes ou les dommages oxydatifs, tandis qu'un autre groupe de protéines répare l'ADN en cas de lésions. **Par conséquent, il est essentiel de maintenir un protéome sain pour que la peau conserve une structure et un fonctionnement corrects.**

Pour pouvoir jouer leur rôle, les protéines doivent acquérir et conserver leur structure, qui peut être altérée par un stress tel qu'un dommage oxydatif ou un choc thermique. L'une des principales altérations subies par les protéines est la **carbonylation** : cette modification post-traductionnelle non enzymatique peut affecter l'ensemble des protéines et provoquer leur perte de structure et de fonction à court terme. À long terme, les protéines carbonylées non dégradées peuvent former des agrégats susceptibles d'avoir un effet délétère sur les cellules et les tissus. Heureusement, une famille spécifique de protéines appelées protéines chaperonnes permet aux autres protéines de se replier correctement et les protège contre le dépliage, la sensibilité à la carbonylation et la perte de fonctionnalité. **Nous avons découvert et caractérisé un extrait de la bactérie *Arthrobacter agilis* (SBE) qui présente une activité chaperonne-like et protège le protéome cutané contre la carbonylation.**

MATÉRIELS ET MÉTHODES

• Préparation et caractérisation de l'extrait

Le SBE a été obtenu à partir d'*Arthrobacter agilis* par extraction alcoolique (éthanol + acétate d'éthyle). Il se compose de 6 bactériorubérines observées par HPLC. Le SBE est stabilisé dans du caprylyl/capric triglycérider et des tocophérols.

• Liaison du SBE et activité chaperon

- Liaison avec la BSA : de la BSA seule (1,6 mg/ml dans du DMSO à 25 %) ou BSA + SBE (dans du DMSO à 25 %) ont été injectés dans une colonne de séparation (Shodex protein KW-803) dans 50 mM de NaH_2PO_4 + 300 mM de NaCl, pH 7 à un flux constant (0,8 ml/min). Le profil HPLC à 220 nm a été étudié.

- Pour évaluer l'activité chaperonne, le SBE ou le témoin ont été ajoutés à raison de 4 μM à une solution de phosphatase alcaline (PA) (10 μl de 10^{-5}) et le mélange a été incubé à 37 °C sous agitation lente avant un choc thermique (55 °C, 1 h). Enfin, 50 μl de substrat de PA ont été ajoutés et la cinétique de l'activité enzymatique était lue à 405 nm.

• Carbonylation des protéines dans les cellules

Des kératinocytes épidermiques humains normaux ont été cultivés en milieu SFM. Un jour après l'ensemencement, les cellules ont été traitées avec le SBE dans du DMSO. Le lendemain, les cellules ont été irradiées par des UVA à 28 J/cm² pendant 5 min, de la lumière bleue à 72 J/cm² pendant 20 min ou incubées avec 50 $\mu\text{l}/\text{ml}$ de particules fines (PM₁₀) pendant 24h. Après le stress, les groupes carbonyles ont été marqués à l'aide d'une sonde spécifique et les protéines totales avec le cy5 NHS. Le ratio entre les protéines carbonylées et les protéines totales a été quantifié.

• Agrégation de l'élastine

L'élastine soluble a été soumise à une irradiation UV (5 J) ou à un stress osmotique (NaCl 0,4 M) en présence ou en absence de SBE. L'agrégation de l'élastine a ensuite été mesurée par absorption à 400 nm, l'augmentation étant corrélée à la légère dispersion de l'élastine agrégée.

• Carbonylation des protéines et dégradation de l'élastine dans les explants

Les SBE ont été appliqués par voie topique sur des explants de peau pendant 4 jours. Au jour 5, les explants ont été lavés et irradiés par des UVA (6 J/cm²) et incubés avec des particules fines (PM₁₀, 1 mg/ml). Des coupes histologiques ont été marquées à l'aide d'une sonde pour les protéines carbonylées ou d'anticorps dirigés contre l'élastine et du DAPI pour l'ADN.

• Analyse statistique

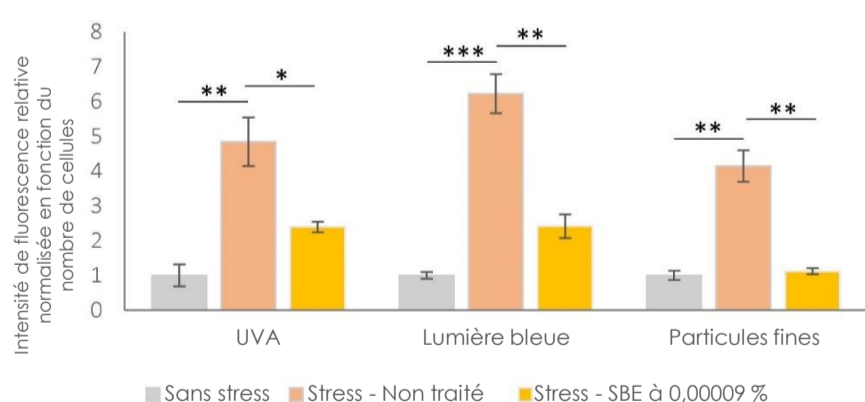
Des tests t de Student ont été réalisés pour comparer les groupes expérimentaux. Les résultats sont indiqués sur les schémas, * : p < 0,05 ; ** : p < 0,01 et *** : p < 0,001 ; n.s. : non significatif.

RÉSULTATS

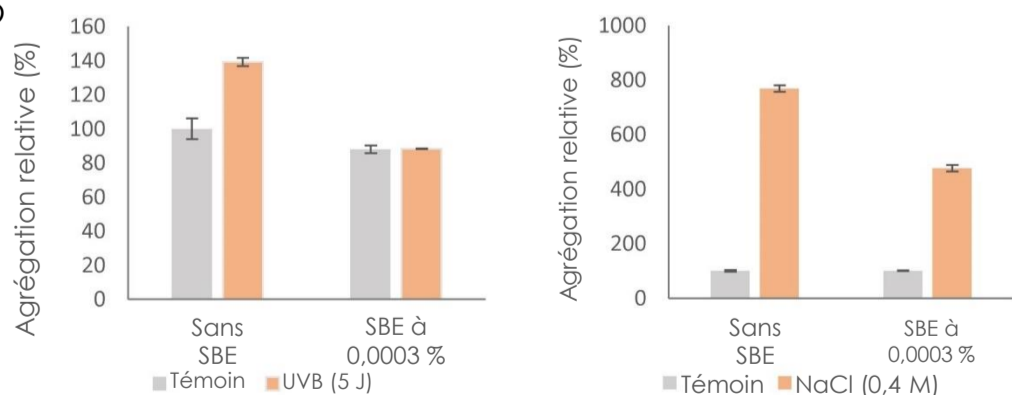
1. Le SBE se lie aux protéines et présente une activité chaperonne-like



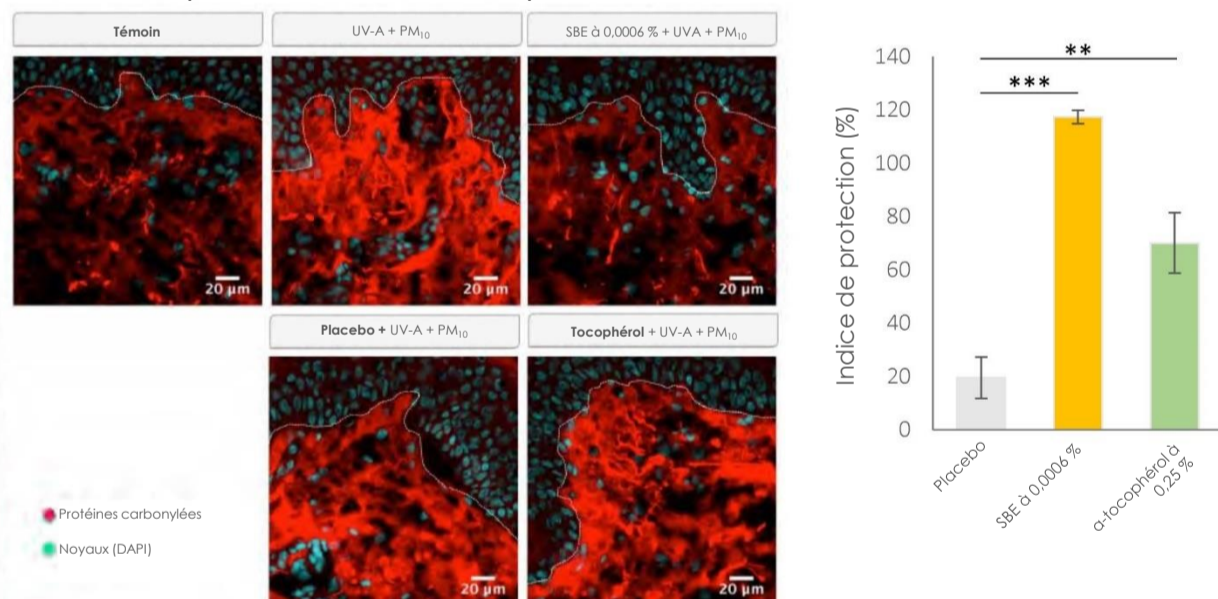
2. Le SBE protège les NHEK contre la carbonylation induite par différents stress



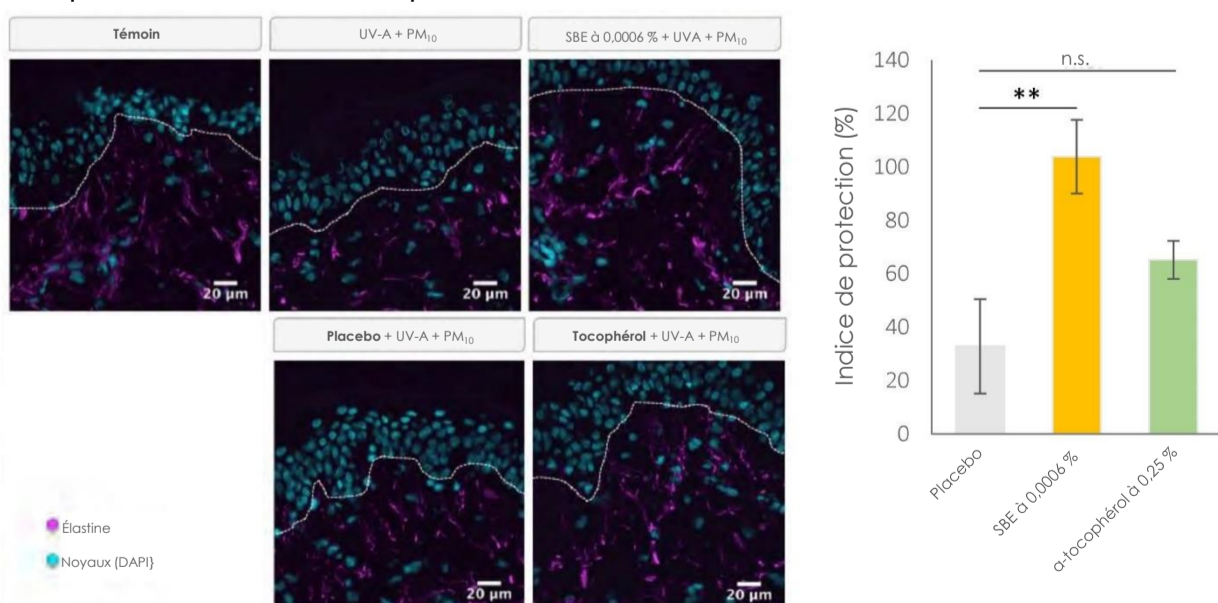
4. Le SBE protège l'élastine contre l'agrégation induite par le stress *in tubo*



3. Le SBE protège les protéines contre la carbonylation induite par les UV et la pollution sur des explants cutanés



5. Le SBE protège l'élastine contre la dégradation induite par les UV et la pollution sur des explants cutanés



CONCLUSION

Nos résultats montrent que le SBE peut se lier aux protéines et possède une **activité chaperonne-like**. Cette activité garantit une protection significative du protéome contre la carbonylation, l'agrégation et la dégradation induites par des facteurs de stress issus de l'environnement. **En définitive, l'extrait d'*Arthrobacter agilis* présente un grand intérêt dans la protection du protéome et peut constituer un allié innovant pour lutter contre les multiples facteurs de stress de la vie quotidienne responsables du vieillissement prématuré de notre peau.**