

Adsorption des protéines sur les nanoparticules : des bases physicochimiques... aux impacts fonctionnels

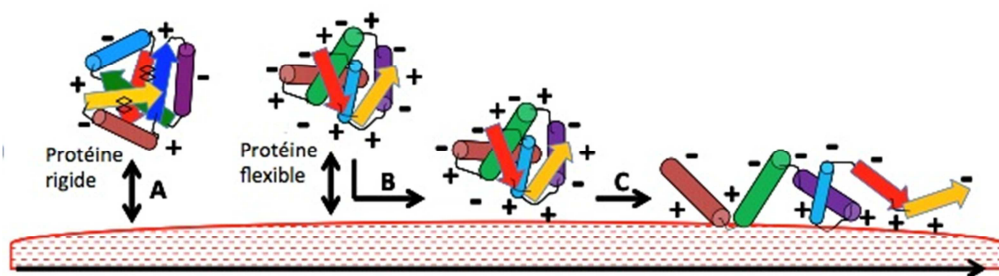
Contexte

Les nanoparticules (NPs) constituent un domaine en pleine expansion et, celles-ci sont déjà produites et employées à l'échelle industrielle pour de nombreuses applications telles que les cosmétiques, le textile et l'industrie alimentaire. Cependant, leur utilisation croissante soulève des inquiétudes quant à leur éventuelle nocivité. De plus, les schémas habituels de toxicité des matériaux macroscopiques ne sont plus applicables pour les NPs. En particulier, les particules de silice de tailles nanométriques sont capables de pénétrer dans les cellules et même d'atteindre le noyau.

Devant la complexité, la multiplicité et parfois les contradictions des résultats obtenus en toxicologie des NPs sur des systèmes vivants, il est clair que l'étude des effets des NPs au niveau moléculaire devrait donner des pistes permettant d'expliquer certains mécanismes du stress observé. Nous avons donc pour objectif de développer cette approche encore peu explorée en nanotoxicologie. Nous nous intéressons en particulier aux interactions NPs-protéines. Dans un environnement biologique, les protéines sont en effet les premières macromolécules à entrer en contact avec les NPs pour former autour de celles-ci une couronne dont la composition influence le devenir, la biodistribution et la toxicité des NPs dans l'organisme.

Travaux antérieurs

Nos travaux réalisés ces dernières années dans le cadre d'une collaboration entre 2 équipes du CEA (l'une spécialisée en biochimie de la Direction des Sciences de la Vie et l'autre en physico-chimie de la Direction des Sciences de la Matière) ont permis de développer une méthodologie originale permettant de mieux comprendre les mécanismes d'adsorption des protéines sur les nanoparticules. Le principe consiste, partant d'un extrait de protéines mis en contact avec des NPs, à identifier et établir par analyse protéomique, les listes de protéines adsorbées et non-adsorbées. Leur analyse statistique comparative permet alors d'identifier les déterminants physico-chimiques de l'adsorption/non-adsorption. Les données ont montré que ce sont les protéines les plus chargées et les plus flexibles qui s'adsorbent (Mathé *et al.*, 2014).



Cette approche a été complétée par des études sur des protéines modèles purifiées qui ont été choisies dans le pool des protéines adsorbables. Des mesures de structure/fonction/dynamique ont été menées montrant une forte altération de ces trois paramètres. De façon assez étonnante, il a été observé qu'une importante perte de structure associée à une diminution de la dynamique protéique peut être corrélée à une augmentation de l'activité de la protéine (Devineau, 2013 et 2014). L'ensemble des données rassemblées a permis d'affiner le modèle d'adsorption des protéines sur des biomatériaux.

Références

Mathé C. *et al.* (2013) Structural determinants for protein adsorption/nonadsorption to silica surface, *Plos One* 8, e81346

Devineau S. *et al.* (2013) Myoglobin on silica : a case study of the impact of adsorption on protein structure and dynamics, *Langmuir* 29, 13465-13472

Devineau S. *et al.* (2014) The nano-bio interface mapped by oxidative footprinting of the adsorption sites of myoglobin, *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, sous presse

Projet de recherche

Nous proposons de poursuivre le travail collaboratif décrit plus haut. Les études précédentes réalisées dans des conditions d'excès de nanoparticules par rapport aux protéines seront cette fois-ci entreprises en condition d'excès de protéines par rapport aux NPs. Ces conditions peuvent être considérées comme beaucoup plus "physiologiques". L'idée est de tester plusieurs types de NPs comme SiO₂, TiO₂, graphène ainsi que l'influence de paramètres tels que la taille, la géométrie, l'état de surface des particules sur le pool des protéines adsorbées. L'analyse de ces données protéomiques devrait faire ressortir si certaines caractéristiques physico-chimiques, structurales ou fonctionnelles favorisent l'adsorption. Ces travaux seront complétés par des expériences d'adsorption sur des protéines de fusion entre des protéines à tester et une protéine fluorescente. Ces approches devraient permettre (i) une compréhension accrue des mécanismes d'adsorption et (ii) une identification des séquences et structures protéiques particulièrement sélectives et affines de certaines NPs. De nombreuses applications seront alors envisageables. Sur la base des connaissances biochimiques acquises, des perspectives en termes toxicologiques sont attendues, telles que la prédiction et l'identification de cibles cellulaires et enzymatiques privilégiées. En ce sens, ce projet tente de poser les bases moléculaires aux effets toxicologiques observés chez les cellules exposées aux NPs.

La thèse sera réalisée sous la co-direction de Jean Labarre (DSV) et de Serge Pin (DSM) au CEA de Saclay. Le sujet de thèse fait partie d'un projet plus vaste qui implique 5 équipes partenaires du CEA/CNRS et qui fait appel à de nombreuses disciplines et compétences (physico-chimie, biochimie, enzymologie, biologie moléculaire et structurale, bioinformatique, toxicologie).

Contacts

Jean Labarre
DSV/iBiTec-S
Tél : 01 69 08 22 31
Email : jean.labarre@cea.fr

Serge Pin et Jean Philippe Renault
DSM/IRAMIS
Tel : 01 69 08 15 49 / 01 69 08 15 50
Email : serge.pin@cea.fr