

APPORTS DE LA SPECTROMÉTRIE À HAUTE RÉOLUTION POUR L'IDENTIFICATION DES COMPOSANTS DE L'EXOPROTÉOME DE BACTÉRIES MARINES

Emie Durighello¹, Joseph Christie-Oleza¹, Jean Armengaud¹

1 - Laboratoire de Biochimie des Systèmes Perturbés, SBTN, iBEB, DSV, CEA Marcoule BP17171, 30207 Bagnols sur Cèze cedex

Les bactéries du genre *Roseobacter* sont abondantes à la surface des écosystèmes marins, représentant 10% des cellules bactériennes des océans et 20% des organismes vivant dans les eaux littorales. Dans le but de mieux comprendre comment ces bactéries marines interagissent avec leur environnement, nous avons analysé l'exoprotéome de *Phaeobacter gallaeciensis* BS107. L'exoprotéome comprends l'ensemble des protéines sécrétées et actives dans le monde extérieur ainsi que les constituants de cellules lysées. Nous avons cultivé la bactérie modèle dans du milieu marin, collecté l'exoprotéome et répertorié son contenu par une approche protéomique shotgun nanoLC-MS/MS. Le composant majeur de cet exoprotéome est une protéine de 55 kDa qui représente 60% du contenu protéique total tel qu'estimé par une approche quantitative sans marquage. Curieusement, cette protéine s'est révélée être récalcitrante à une analyse protéomique classique. Pour son identification, nous avons adopté une stratégie de séquençage *de novo* à l'aide de spectres acquis en spectrométrie de masse en tandem avec une haute résolution. Cette protéine abondante se révèle être une toxine de type RTX (Christie-Oleza *et al.* 2012)^[1], la protéine ZP_02147451. Cette protéine contient un domaine similaire à la peptidase M10 serralsine C-terminale. Nous avons décelé un nombre inhabituellement faible de résidus basiques dans cette protéine, une particularité conservée chez les toxines de type RTX chez cette souche (Durighello *et al.* 2012)^[2]. Ceci expliquerait sa récalcitrance à une protéolyse trypsique et permettrait à ces protéines d'augmenter leur durée de vie dans un environnement non-cellulaire. À partir de ces résultats, nous proposons d'analyser systématiquement les exoprotéomes des bactéries environnementales avec des stratégies incluant des protéolyses avec plusieurs protéases et des requêtes avec semi-spécificité. Cette étude a permis de mettre en évidence des traits spécifiques des constituants de l'exoprotéome des bactéries marines.

Mots-clés : Exoprotéome, RTX toxine, Récalcitrance proteolytique, Séquençage *de novo*, Spectrométrie tandem à haute résolution.

¹ Christie-Oleza *et al.* (2012) *Mol Cell Proteomics*, 11(2):M111.013110.

² Durighello *et al.* (2012) *Mar Drugs* (soumis).