

12

DEMANDE DE BREVET D'INVENTION

A1

22 Date de dépôt : 27.01.10.

30 Priorité :

43 Date de mise à la disposition du public de la
demande : 29.07.11 Bulletin 11/30.

56 Liste des documents cités dans le rapport de
recherche préliminaire : *Se reporter à la fin du
présent fascicule*

60 Références à d'autres documents nationaux
apparentés :

71 Demandeur(s) : L'OREAL Société anonyme — FR.

72 Inventeur(s) : SEXTIUS, PEGGY, TACHEAU
CHARLOTTE, BERNERD FRANCOISE, BERNARD
BRUNO et MARIONNET CLAIRE.

73 Titulaire(s) : L'OREAL Société anonyme.

74 Mandataire(s) : ERNEST GUTMANN YVES PLASSE-
RAUD SAS.

54 SIGNATURE MOLECULAIRE PEAU AGEE.

57 La présente invention est relative à une méthode d'évaluation de l'homéostasie épidermique de la peau d'un sujet comprenant la détermination du caractère significativement modulé ou non du niveau d'expression d'au moins un gène choisi parmi les gènes ADAM 15, ARL4D, CAP1, CDH1, GLG1, GOLGA4, H2AFB2, ICAM1, IFNAR2, IL3RA, ITGAM, KHDRBS1, LMNA, MMP7, PLCL1, PTGES, RNPS1, SAP18, SILV, SLC31A1, TUBB4, XRCC1, ANXA6, ARPC4, ATP1A1, CDC37, CLEC2B, COX7B, COX7C, CYC1, DAPK3, FGA, HSD17B10, ITPKC, MDK, NGB, POLR2G, PSMA5, PSME2, SF3B2, SNRPA1, SSBP1, TLE4, TSPAN3 et UQCRCQ, au sein de l'épiderme en réponse à une agression physique ou chimique du stratum corneum. Elle concerne également différentes méthodes d'évaluation et de diagnostic de l'état de l'épiderme d'un individu, ainsi que des méthodes d'évaluation et de criblage de produits ou procédés susceptibles d'améliorer l'homéostasie épidermique. L'invention a également trait à des kit pour la mise en oeuvre de ces différentes méthodes.



La présente invention est dans le domaine cosmétique, et plus particulièrement dans le domaine du soin et du traitement cosmétique de la peau.

L'invention repose sur l'identification, par les inventeurs de 45 gènes dont le caractère modulé ou non de leur niveau d'expression au sein de l'épiderme après une
5 agression, reflète l'homéostasie épidermique de la peau et permet de distinguer une peau dite « âgée » d'une peau dite « jeune ».

Le stratum corneum, ou couche cornée, est la couche superficielle de l'épiderme située à l'interface entre l'organisme et son environnement. Il est composé de cornéocytes, cellules anucléées résultant de la différenciation des kératinocytes épidermiques. Les
10 cornéocytes sont riches en kératines et sont entourés d'une matrice lipidique imperméable. De par sa composition protéique et lipidique le stratum corneum joue un rôle essentiel de barrière cutanée. Il empêche l'intrusion d'agents microbiologiques et permet de préserver l'hydratation de la peau et donc du corps en général.

Toutes les atteintes physiques ou chimiques à l'intégrité du stratum corneum ont
15 pour conséquence une augmentation de la perte en eau au travers de la peau. Ainsi, l'application topique d'acétone ou de détergents provoquant une délipidation superficielle du stratum corneum, ou le tape stripping qui consiste à éliminer les cornéocytes à l'aide d'un ruban adhésif, augmentent de manière très importante la perte insensible en eau (Grubauer G. et al, 1989; Kuss O. et al, 1998; Pinnagoda J. et al, 1990; Tanaka M. et al,
20 1997; Zhai H. et al, 1998). De telles altérations perturbent en fait toute l'homéostasie épidermique et induisent une réponse physiologique dans le but de restaurer l'intégrité de la fonction barrière du stratum corneum. Ainsi, les kératinocytes des couches superficielles de l'épiderme activent la sécrétion extracellulaire de corps lipidiques afin d'apporter rapidement à la peau une nouvelle membrane imperméable et ainsi de réduire de façon
25 superficielle la perte en eau (Grubauer G. et al., 1987; Menon G.K. et al., 1985). D'autre part, la prolifération des kératinocytes de la couche basale est activée pour remplacer les cellules du stratum corneum qui auraient été endommagées (Proksch E. et al., 1991; Wood L.C. et al, 1992).

La mesure de la « Perte Insensible en Eau » (PIE) est la méthode la plus
30 fréquemment utilisée pour évaluer l'intégrité de la fonction barrière du stratum corneum (Piepkorn M. et al., 1994). La PIE se mesure à l'aide d'un évaporimètre. Cet appareil

possède un détecteur d'humidité et de température qui lui permet de mesurer le gradient d'évaporation de l'eau à la surface de la peau. Cette technologie présente les avantages d'être macroscopique, rapide et non invasive. Cependant, les mesures de PIE sont soumises à de nombreux facteurs de variation qui en limitent la précision. La température ambiante, l'hygrométrie souvent inhérente à la saison où est menée l'étude, la turbulence de l'air ou encore la pression avec laquelle est appliqué l'appareil induisent en effet des variations notables au niveau de ces mesures (Barel A.O. et al, 1995). L'état de stress du volontaire lors des mesures a également une influence non négligeable, un temps de repos suffisant avant lecture est d'ailleurs conseillé (Van S., V et al, 1994). Même sur des régions aussi semblables que les avant-bras, il a été montré une nécessité indispensable de randomisation des mesures, la PIE étant significativement accrue sur l'avant-bras dominant (Treffel P. et al, 1994). Dans ce contexte, la mise au point d'une méthode d'évaluation simple, fiable, reproductible et précise de l'état de la fonction barrière épidermique et par conséquent de la dynamique de sa fonction homéostasique, serait particulièrement avantageuse.

Concernant le vieillissement de la peau et en dehors des conséquences bien connues de l'âge sur le relief de la peau, de nombreux inconforts sont rapportés par les personnes âgées. Ces inconforts trouvent leur origine dans une altération de la fonction barrière et de l'homéostasie épidermique de leur peau. En particulier, il est fréquemment observé chez les personnes âgées une plus forte prévalence aux xéroses chroniques, caractérisées par une perte en eau accrue au travers de la peau. En fait, le stratum corneum des peaux âgées a une teneur en lipides intercellulaires décriue par rapport aux peaux jeunes, particulièrement pendant la période hivernale (Rogers J. et al., 1996; Saint Leger D. et al 1988). Ce changement de composition du stratum corneum perturbe ses propriétés physico-chimiques de barrière cutanée. Le stratum corneum devient notamment plus sensible avec l'âge aux agressions physiques ou chimiques telles que le tape stripping ou l'application d'acétone (Ghadially R. et al, 1995) et sa perméabilité aux médicaments et en particulier aux composés hydrophiles est décriue (Roskos K.V. et al, 1989). D'autre part, la sévérité des allergies de contact est exacerbée sur les peaux âgées à cause d'un turnover épidermique plus lent et donc moins fréquent (Piaserico S. et al, 2004). Enfin, la vitesse de récupération de la fonction barrière après altération du stratum corneum est ralentie avec l'âge laissant supposer un dysfonctionnement de la fonction

homéostatique de l'épiderme (Denda M., 2002; Ghadially R. et al, 1995; Leveque J.L.,2001). Cependant, malgré ces perturbations fonctionnelles dues au vieillissement de la peau, il a été montré que le stratum corneum des personnes âgées a une épaisseur équivalente à celle des peaux jeunes (Lock-Andersen, J. et al, 1997) et une PIE constitutive peu différente (Ghadially, R. et al, 1996). Ceci démontre que la PIE ne permet pas, dans le cas précis du vieillissement, une évaluation complète de la fonctionnalité de la barrière cutanée et de l'homéostasie épidermique de la peau d'un sujet.

Or, la plupart des études cliniques décrites à ce jour se basent sur des mesures de PIE pour objectiver l'effet de traitements sur la fonction barrière cutanée ou pour suivre le retour de l'épiderme à un état homéostatique normal après agression. Lors d'une étude visant à déterminer l'action de divers traitements cosmétiques sur la fonction barrière de l'épiderme humain, une analyse transcriptomique de la réponse de l'épiderme et des mesures de PIE ont été réalisées simultanément (Marionnet C. et al, 2003). L'utilisation de microarray a ainsi permis d'identifier à la fois des marqueurs reproductibles et communs aux différentes agressions ainsi que des marqueurs spécifiques à chacune des agressions. Cependant la PIE n'a pas permis d'apporter des éléments de comparaison des traitements cosmétiques effectués.

Dans ces conditions, il existe un besoin d'identification de marqueurs pertinents, reproductibles et significatifs qui reflètent l'homéostasie épidermique et qui permettent de mettre en évidence un éventuel déséquilibre de la fonction barrière de la peau dû à l'homéostasie épidermique, tel que le déséquilibre dû à l'âge.

Dans cette optique, les inventeurs ont réalisé une étude transcriptomique comparative des niveaux de modulation de l'expression génique et de la cinétique de retour à l'homéostasie épidermique de l'épiderme humain après altération du stratum corneum par tape stripping, entre des individus sains jeunes et âgés.

Brièvement, des volontaires masculins sains ont été recrutés afin de participer à une étude transcriptomique de plus de 4000 gènes connus pour être exprimés dans la peau. 5 groupes de 6 individus jeunes (25 +/- 4 ans) et 5 groupes de 6 individus âgés (67 +/- 4 ans) ont été établis. Au temps t = 0, un tape stripping a été réalisé sur la face interne de l'un de leurs avant bras, choisi de façon randomisée, jusqu'à ce que le stratum corneum soit entièrement enlevé (48 +/- 7 strips en moyenne quelque soit l'âge des

patients). L'autre avant bras témoin n'a subi aucun traitement. Aux temps 02h, 06h, 18h, 30h et 72h après le tape stripping, des prélèvements d'épiderme d'environ 1.5 cm X 1.5 cm ont été effectués sur les deux avant bras d'un groupe d'individus jeunes et d'un groupe d'individus âgés à l'aide d'un dermatome. Les ARN totaux de ces prélèvements ont été
 5 extraits et utilisés pour hybridation sur membranes DermArray® cDNA microarrays (IntegriDerm, Birmingham, AL, USA).

L'expression de plusieurs centaines de gènes a varié au cours du temps après tape stripping. Mais de façon surprenante et inattendue, les inventeurs ont observé que 22 gènes en particulier ont montré une modulation significative chez les sujets jeunes alors
 10 qu'aucune variation significative de leur expression n'était visible chez les sujets âgés. Il s'agit des gènes ADAM15, ARL4D, CAP1, CDH1, GLG1, GOLGA4, H2AFB2, ICAM1, IFNAR2, IL3RA, ITGAM, KHDRBS1, LMNA, MMP7, PLCL1, PTGES, RNPS1, SAP18, SILV, SLC31A1, TUBB4 et XRCC1 (groupe A).

Inversement, 23 gènes ont montré une modulation significative chez les sujets
 15 âgés alors qu'aucune variation significative de leur expression n'était visible chez les sujets jeunes. Il s'agit des gènes ANXA6, ARPC4, ATP1A1, CDC37, CLEC2B, COX7B, COX7C, CYC1, DAPK3, FGA, HSD17B10, ITPKC, MDK, NGB, POLR2G, PSMA5, PSME2, SF3B2, SNRPA1, SSBP1, TLE4, TSPAN3 et UQCRQ (groupe B).

Cette réponse différentielle est le reflet moléculaire des spécificités d'expressions
 20 géniques dues à l'âge. Les 45 gènes identifiés par les inventeurs permettent donc de distinguer une peau de type « jeune » d'une peau de type « âgée » en réponse à une agression, et donc par là d'évaluer la capacité homéostasique de l'épiderme d'un individu. Il s'agit d'une signature représentative des différences d'expression génique existant entre la peau humaine de type « jeune » et la peau de type « âgée » suite à une altération de la
 25 fonction barrière par une agression.

Enfin, 108 gènes n'ont montré aucune différence d'expression dans le temps ni selon l'âge du volontaire. Les 19 d'entre eux dont le profil est le plus semblable entre volontaires jeunes et âgés ont été sélectionnés en tant que gènes de ménage.

Par « Tape stripping » ou « décollement de la couche cornée par un adhésif », on
 30 entend une méthode pour réaliser une agression physique de la peau consistant à éliminer les cornéocytes à l'aide d'un ruban adhésif, le cas échéant en reproduisant

plusieurs fois le décollement de l'adhésif. Le tape stripping est dit 'contrôlé' lorsqu'il n'altère que le stratum corneum et éventuellement les couches superficielles de l'épiderme malpighiens, sans altérer les couches plus profondes de l'épiderme.

5 L'« homéostasie épidermique » caractérise l'ensemble des fonctions de régulation de l'épiderme qui lui confèrent la capacité de maintenir un équilibre physiologique et un bon fonctionnement en dépit des contraintes extérieures. L'homéostasie de l'épiderme est entre autre assurée par sa fonction barrière qui permet notamment d'empêcher l'intrusion d'agents microbiologiques et de préserver l'hydratation de la peau en empêchant la perte en eau. Cette capacité peut être excellente ou bonne quand, en réponse à une agression, 10 l'épiderme réagit immédiatement ou rapidement pour reconstituer l'équilibre de fonctionnement, elle peut être déficiente ou inexistante quand le retour à l'équilibre est tardif ou n'est pas atteint. Cette capacité homéostasique de la peau peut donc être pleinement assurée, cas de la peau jeune normale, ou défective, cas de la peau âgée ou de toutes autres peaux présentant un déséquilibre de fonctionnement.

15 La présente invention est relative à l'utilisation d'une nouvelle méthode d'évaluation de l'état de l'épiderme d'un sujet au travers des déficiences de sa fonction homéostatique par le biais de la détermination du caractère significativement modulé ou non du niveau d'expression de tout ou partie des 45 gènes identifiés par les inventeurs en réponse à une agression du stratum corneum. Cette invention s'inscrit également dans le 20 cadre du traitement du vieillissement chronologique de la peau. En effet, ces 45 gènes peuvent être utilisés comme marqueurs des différences d'expression génique au niveau de l'épiderme existant entre individus jeunes et individus âgés après altération forte du stratum corneum. L'utilisation de plusieurs de ces gènes, en particulier l'utilisation d'au moins un gène du groupe A et d'au moins un gène du groupe B, constitue une signature 25 moléculaire des différences d'expression génique au niveau de l'épiderme existant entre individus jeunes et individus âgés après altération forte du stratum corneum. Cette signature constitue également un avantage évident pour mesurer l'effet bénéfique d'un produit (actif, molécule, extrait naturel), mais aussi d'un procédé (lumière, injection, voie orale) sur la peau. La présente invention permettra en particulier l'évaluation de l'efficacité 30 d'un produit ou procédé anti-âge susceptible d'améliorer le renouvellement ou l'homéostasie épidermique en modulant chez les individus âgés l'expression de tout ou

partie des gènes décrits de sorte que leur profil d'expression se rapproche de celui de peaux jeunes.

Selon un premier aspect, la présente demande est relative à une méthode d'évaluation de l'homéostasie épidermique de la peau d'un sujet comprenant la
 5 détermination du caractère significativement modulé ou non du niveau d'expression d'au moins un gène au sein de l'épiderme en réponse à une agression physique ou chimique du stratum corneum, où ledit gène est choisi parmi les gènes ADAM15, ARL4D, CAP1, CDH1, GLG1, GOLGA4, H2AFB2, ICAM1, IFNAR2, IL3RA, ITGAM, KHDRBS1, LMNA, MMP7, PLCL1, PTGES, RNPS1, SAP18, SILV, SLC31A1, TUBB4, XRCC1, ANXA6,
 10 ARPC4, ATP1A1, CDC37, CLEC2B, COX7B, COX7C, CYC1, DAPK3, FGA, HSD17B10, ITPKC, MDK, NGB, POLR2G, PSMA5, PSME2, SF3B2, SNRPA1, SSBP1, TLE4, TSPAN3 et UQCQR.

Ledit sujet ou individu est par exemple un mammifère. De préférence, le sujet est un sujet humain.

15 Les 45 gènes précédemment cités, à savoir ADAM15, ARL4D, CAP1, CDH1, GLG1, GOLGA4, H2AFB2, ICAM1, IFNAR2, IL3RA, ITGAM, KHDRBS1, LMNA, MMP7, PLCL1, PTGES, RNPS1, SAP18, SILV, SLC31A1, TUBB4, XRCC1, ANXA6, ARPC4, ATP1A1, CDC37, CLEC2B, COX7B, COX7C, CYC1, DAPK3, FGA, HSD17B10, ITPKC, MDK, NGB, POLR2G, PSMA5, PSME2, SF3B2, SNRPA1, SSBP1, TLE4, TSPAN3 et
 20 UQCQR, sont dénommés les gènes de l'invention.

La présente invention concerne donc l'évaluation de l'homéostasie épidermique et la mise en évidence de ses dysfonctionnements grâce à l'analyse du caractère modulé ou non du niveau d'expression au sein de l'épiderme d'un ou plusieurs gènes de l'invention en réponse à une agression.

25 Le niveau d'expression d'un gène au sein de l'épiderme en réponse à une agression du stratum corneum est considéré comme « significativement modulé » s'il diffère d'au moins 30% du niveau d'expression dudit gène en l'absence d'agression. Préférentiellement, ce niveau d'expression diffère d'au moins 40%, préférentiellement encore d'au moins 50%, par exemple d'au moins 60 ou 70% du niveau d'expression dudit
 30 gène en l'absence d'agression. La modulation du niveau d'expression peut être négative, auquel cas on parle d'un effet répressif, ou positive, auquel cas on parle d'un effet

- 7 -

inducteur. S'il s'agit d'une modulation positive, le niveau d'expression d'un gène au sein de l'épiderme en réponse à une agression du stratum corneum est notamment considéré comme « significativement modulé » s'il est au moins 1,3 fois, voire 1,5 fois supérieur au niveau d'expression dudit gène en l'absence d'agression. Selon certaines mises en oeuvre, ce niveau d'expression est 2 ou 3 fois supérieur au niveau d'expression dudit gène en l'absence d'agression. S'il s'agit d'une modulation négative, le niveau d'expression d'un gène au sein de l'épiderme en réponse à une agression du stratum corneum est notamment considéré comme « significativement modulé » s'il est inférieur à 70%, voir à 50%, du niveau d'expression dudit gène en l'absence d'agression. Selon certaines mises en oeuvre, ce niveau d'expression est 2 ou 3 fois inférieur au niveau d'expression dudit gène en l'absence d'agression.

De préférence, les zones de peau agressée et non agressée sont des zones de peau équivalentes, en termes d'emplacement et de fonction. Par exemple, il s'agit de zones de peau situées sur des membres gauche et droit, en des endroits équivalents, notamment l'intérieur de l'avant bras. Le caractère « significativement modulé » du niveau d'expression d'un gène en réponse à une agression peut également être normalisé par rapport à un niveau de référence.

L'utilisation des 45 gènes selon l'invention est avantageuse dans la mesure où le caractère significativement modulé ou non est déterminant. Il n'est par conséquent pas nécessaire de comparer le niveau de modulation observé au niveaux de modulation moyens observés dans les deux populations « jeunes » et âgés » afin d'évaluer l'homéostasie épidermique.

Selon une première mise en oeuvre, une telle méthode comprend l'analyse différentielle de l'expression d'au moins un gène de l'invention en réponse à une agression physique ou chimique du stratum corneum.

Par « analyse différentielle » de l'expression d'un gène donné, on entend l'analyse des différences entre l'expression d'un gène au sein d'une région de peau ayant subi une agression par rapport à une région de peau du même individu n'ayant pas subi d'agression.

Selon une mise en oeuvre particulière, ladite méthode comprend

- 8 -

- une étape de réalisation d'une agression du stratum corneum sur une région de la peau d'un individu, puis
- la détermination du niveau d'expression d'au moins un des gènes selon l'invention au sein de l'épiderme correspondant à la région agressée et au sein de l'épiderme correspondant à une région non agressée, et
- une étape de comparaison du niveau d'expression dudit gène au sein de l'épiderme correspondant aux régions agressée et non agressée.

Selon une autre mise en œuvre, ladite méthode comprend une étape de réalisation d'une agression du stratum corneum sur une région de la peau d'un individu, puis la détermination du niveau de modulation de l'expression d'au moins un gène de l'invention au sein de l'épiderme correspondant à la région agressée et une étape de comparaison de du niveau de modulation observé au niveau de référence pour la modulation de l'expression du gène choisi.

Par « niveau de modulation » de l'expression d'un gène donné, on entend la différence entre le niveau d'expression du gène au sein d'une peau agressée et celui au sein d'une peau non agressée. La peau agressée et non agressée est celle du même individu.

Selon encore une autre mise en œuvre, ladite méthode comprend la comparaison du niveau de modulation de l'expression d'au moins un gène de l'invention au sein de l'épiderme correspondant à une région de la peau après une agression du stratum corneum, ladite comparaison se faisant par rapport au niveau de référence pour la modulation de l'expression du gène choisi.

Pour les différents gènes de l'invention, dans certaines mises en œuvre des méthodes de l'invention, il est fait mention d'un « niveau de référence » pour la modulation de l'expression du gène. Ce niveau de référence correspond à la modulation du niveau d'expression d'un gène de l'invention, qui est observée, après agression physique ou chimique de la peau, et caractérisant une homéostasie épidermique normale, c'est-à-dire une fonction barrière normale de l'épiderme, telle qu'on la trouve en général pour le peau de sujets jeunes. Typiquement, dans le cadre de la présente invention un sujet de moins de 40 ans, plus particulièrement un sujet âgé de 18 à 30 ans est considéré comme jeune.

De préférence, le niveau de référence pour la modulation des gènes de l'invention correspond à celui observé normalement pour la peau d'un sujet âgé d'environ 25 ans. Par « normalement », on entend le niveau correspondant à la moyenne plus ou moins 10% des niveaux de modulation d'au moins cinq, de préférence une dizaine, voire d'au moins une vingtaine voire une centaine d'individus âgés d'environ 25 ans.

Ce niveau de référence pour la modulation d'un gène de l'invention peut être déterminé sur des volontaires jeunes, de préférence de moins de 25 ans, en fonction de l'agression réalisée. Les volontaires ont de préférence plus de 18 ans.

La partie expérimentale de la présente demande montre la détermination du caractère modulé ou non des 45 gènes de l'invention chez des individus âgés de 25 ans (+/- 4 ans). Le niveau moyen de modulation observé au sein de ce groupe d'individus peut constituer, au sens de la présente invention, un niveau de référence, pour la modulation des gènes de l'invention en réponse à un tape stripping.

A l'inverse, il est possible de définir le « niveau de référence » pour la modulation des gènes de l'invention, par rapport à la modulation desdits gènes chez des individus présentant une peau dite âgée c'est-à-dire dont l'homéostasie épidermique, ou fonction barrière homéostasique, est altérée. Typiquement, une peau de type dite âgée correspond à la peau d'un individu de plus de 50 ans, préférentiellement d'un individu âgé de 60 à 80 ans.

Par exemple, dans certaines mises en œuvre de méthodes de l'invention, le niveau de référence correspond au niveau de modulation de l'expression dudit gène observé normalement pour une peau d'un sujet âgé d'environ 60 ans ou plus. Par « normalement », on entend le niveau correspondant à la moyenne plus ou moins 10% des niveaux de modulation d'au moins cinq, de préférence une dizaine, voire d'au moins une vingtaine voire une centaine d'individus âgés de plus de 60 ans.

Ce niveau de référence pour la modulation d'un gène de l'invention peut être déterminé sur des volontaires âgés, de préférence de plus de 60 ans, en fonction de l'agression réalisée. Les volontaires ont de préférence moins de 80 ans.

La partie expérimentale de la présente demande montre la détermination du caractère modulé ou non des 45 gènes de l'invention chez des individus âgés de 67 ans (+/- 4 ans). Le niveau moyen de modulation observé au sein de ce groupe d'individus peut

constituer, au sens de la présente invention, un niveau de référence, pour la modulation des gènes de l'invention en réponse à un tape stripping.

De manière particulièrement préférée, ledit sujet ou individu est un être humain, de préférence âgé d'au moins 20 ans, et tout particulièrement d'au moins 40 ans, de
5 préférence d'au moins 60 ans, de préférence encore, d'au moins 65 ans. Il peut s'agir d'un homme ou d'une femme. La peau ou l'épiderme de ce sujet ou individu à laquelle il est fait référence peut correspondre à n'importe quelle région du corps; de préférence il s'agit de la peau ou de l'épiderme situé sur un des membres, et tout particulièrement de la peau ou de l'épiderme des bras, de préférence des avant-bras.

10 Selon un mode de réalisation préféré de la méthode de l'invention, la modulation du niveau de l'expression du ou des gène(s) choisi(s) est normalisée par référence à l'expression d'au moins un gène choisi parmi S100A10, ACTR1A, RPL28, RPL5, RPL35, RPS13, RPS23, RPS16, RPL18, RPS15A, RPL7A, RPS28, G3BP1, TMSB4X, HLA-C, DYNLL1, NACA, ARHA, BAI2, UBA52 et GNAS au sein de l'épiderme correspondant à la
15 région agressée. De préférence la normalisation est effectuée à l'aide d'au moins un gène parmi RPL28, RPL5, RPL35, RPS13, RPS23, RPS16, RPL18, RPS15A, RPL7A, RPS28, G3BP1, TMSB4X, HLA-C, DYNLL1, NACA, ARHA, BAI2, UBA52 et GNAS.

Les inventeurs ont en effet montré que le niveau d'expression de ces gènes était non seulement constant dans le temps qui suit l'agression, mais également semblable
20 quel que soit l'âge de l'individu. Par conséquent, le niveau d'expression de ces gènes est parfaitement indépendant de l'homéostasie épidermique. Le niveau d'expression de ces gènes est donc adapté pour effectuer la normalisation du niveau d'expression d'un gène selon la présente invention. Les 19 gènes RPL28, RPL5, RPL35, RPS13, RPS23, RPS16, RPL18, RPS15A, RPL7A, RPS28, G3BP1, TMSB4X, HLA-C, DYNLL1, NACA, ARHA,
25 BAI2, UBA52 et GNAS sont qualifiés de « gènes de ménage ».

Dans la méthode selon la présente invention, l'agression du stratum corneum qui est réalisée au niveau de la peau est une agression physique ou chimique. Selon une mise en œuvre préférée plus particulièrement illustrée dans la section expérimentale de la demande, l'agression est réalisée par « tape stripping ». Selon d'autres mises en œuvre,
30 l'agression peut être chimique et consister par exemple en l'application d'acétone, d'un agent délipidant (par exemple SLS, SDS, ...) ou d'un agent chimique abrasif acide ou

basique. L'agression peut également être réalisée par une méthode mécanique telle que l'abrasion ou l'utilisation de micro-aiguilles. Elle peut également être réalisée par une méthode physique telle que la chaleur.

5 D'autres moyens classiques pour effectuer une altération du stratum corneum sont bien connus de l'homme du métier dans le domaine de l'invention.

De préférence, l'agression du stratum corneum réalisée dans les méthodes de l'invention, entraîne une altération forte du stratum corneum. De manière tout particulièrement préférée, la très grande majorité du stratum corneum est endommagée, voire totalement retirée, sur la zone subissant l'agression.

10 Afin de limiter l'inconfort pour l'individu, la zone subissant l'agression peut toutefois être limitée à quelques centimètres carrés, voire moins. De préférence, la zone a un diamètre minimal de 3 mm.

De préférence, l'agression physique ou chimique du stratum corneum est limitée au stratum corneum et n'endommage pas les autres couches de l'épiderme, ni le derme.

15 Dans la partie expérimentale de cette demande, il est décrit la réalisation d'un « tape stripping » contrôlé permettant de n'altérer que le stratum corneum. Les couches superficielles de l'épiderme malpighiens peuvent éventuellement être touchées, mais de préférence, l'agression est contrôlée pour éviter d'agir sur des couches plus internes de l'épiderme.

20 Les présents inventeurs ont démontré qu'en réponse à une agression physique ou chimique du stratum corneum, chacun de ces 45 gènes était ou non significativement modulé en fonction de la capacité homéostatique de l'épiderme de la peau examinée. Ces différences d'expression génique constituent donc une signature représentative de l'homéostasie de l'épiderme. Cependant, dans la mesure où les niveaux de modulation
25 peuvent être différents selon les individus et où d'autres facteurs peuvent conduire à la modulation du niveau de l'expression d'un gène de l'invention sans rapport avec l'homéostasie épidermique, les méthodes de l'invention sont de préférence mises en œuvre en déterminant le caractère significativement modulé ou non du niveau d'expression d'au moins deux gènes au sein de l'épiderme en réponse à une agression
30 physique ou chimique du stratum corneum, où lesdits gènes sont choisis parmi les gènes ADAM15, ARL4D, CAP1, CDH1, GLG1, GOLGA4, H2AFB2, ICAM1, IFNAR2, IL3RA,

ITGAM, KHDRBS1, LMNA, MMP7, PLCL1, PTGES, RNPS1, SAP18, SILV, SLC31A1, TUBB4, XRCC1, ANXA6, ARPC4, ATP1A1, CDC37, CLEC2B, COX7B, COX7C, CYC1, DAPK3, FGA, HSD17B10, ITPKC, MDK, NGB, POLR2G, PSMA5, PSME2, SF3B2, SNRPA1, SSBP1, TLE4, TSPAN3 et UQCRQ.

- 5 De préférence encore, au moins trois, quatre, cinq, six, huit ou dix gènes différents sont choisis et leur modulation suivie en réponse à une agression du stratum corneum.

Les présents inventeurs ont notamment démontré qu'en réponse à une agression physique ou chimique du stratum corneum, le niveau d'expression de 22 des gènes de l'invention était significativement modulé chez les peaux de type « jeune » (groupe A) mais
 10 pas chez les peaux de type « âgé », et inversement pour les 23 autres gènes de l'invention (groupe B). Ces différences d'expression génique constituent donc une signature représentative du caractère jeune ou âgé de l'épiderme.

De préférence, la méthode selon la présente invention comprend

- 15 - la détermination du caractère significativement modulé ou non du niveau d'expression d'au moins un, deux, trois, quatre ou cinq gène(s) choisi(s) parmi les gènes ADAM15, ARL4D, CAP1, CDH1, GLG1, GOLGA4, H2AFB2, ICAM1, IFNAR2, IL3RA, ITGAM, KHDRBS1, LMNA, MMP7, PLCL1, PTGES, RNPS1, SAP18, SILV, SLC31A1, TUBB4 et XRCC1 au sein de l'épiderme en réponse à une agression physique ou chimique du stratum corneum, et
- 20 - la détermination du caractère significativement modulé ou non du niveau d'expression d'au moins un, deux, trois, quatre ou cinq gène(s) choisi(s) parmi les gènes ANXA6, ARPC4, ATP1A1, CDC37, CLEC2B, COX7B, COX7C, CYC1, DAPK3, FGA, HSD17B10, ITPKC, MDK, NGB, POLR2G, PSMA5, PSME2, SF3B2, SNRPA1, SSBP1, TLE4, TSPAN3 et UQCRQ au sein de
- 25 l'épiderme en réponse à une agression physique ou chimique du stratum corneum.

Selon une mise en œuvre particulière, la méthode selon l'invention comprend la détermination du caractère significativement modulé ou non des 45 gènes de l'invention au sein de l'épiderme en réponse à une agression physique ou chimique du stratum
 30 corneum.

De préférence, dans le cadre des méthodes selon l'invention la détermination du niveau de modulation est réalisée dans les 72 heures suivant l'agression chimique ou physique du stratum corneum, notamment quand ladite agression est un tape stripping. En effet, c'est sur cet intervalle de temps que les inventeurs ont mis en évidence les différences les plus importantes entre les peaux jeunes et âgées et reflétant donc les dysfonctionnements de l'homéostasie épidermique. De préférence les analyses différentielles ou comparaisons mentionnées ci-dessus sont réalisées dans les 36 heures suivant l'agression chimique ou physique du stratum corneum.

Comme explicité dans la partie expérimentale de la demande, les inventeurs ont de plus remarqué que les différences les plus significatives étaient observées 6 heures et 30 heures après l'agression chimique ou physique du stratum corneum.

Dans ces conditions, la détermination du niveau de modulation est de préférence réalisée 6 heures ou 30 heures après l'agression, ou bien successivement 6 et 30 heures après l'agression. Cette détermination peut sinon être réalisée à tout moment de préférence dans les 36 premières heures suivant l'agression du stratum corneum.

La présente invention est également relative à l'utilisation d'un ou plusieurs gènes de l'invention, de préférence au moins un gène du groupe A et au moins un gène du groupe B, pour évaluer l'homéostasie épidermique de la peau d'un sujet, de préférence un sujet humain, comprenant la détermination du caractère significativement modulé ou non du niveau d'expression du ou desdits gènes au sein de l'épiderme en réponse à une agression physique ou chimique du stratum corneum.

Les différentes méthodes selon la présente invention nécessitent la détermination de la modulation du niveau d'expression d'au moins un gène choisi parmi les 45 gènes de l'invention. L'expression des gènes est de préférence quantifiée par analyse de l'ARN messager (ARNm) transcrit au sein de l'épiderme. La quantification de l'ARNm transcrit est réalisée par exemple à l'aide de la technique de Northern Blot, dot blot, RT-PCR, hybridation sur puces à ADN, méthode SAGE ou par utilisation de cartes microfluidiques. D'autres techniques permettant la quantification de l'ARNm peuvent bien entendu être utilisées. Toutes ces techniques sont bien connues de l'homme du métier.

Par exemple, des amorces sens (S) et antisens (AS) ayant les séquences illustrées dans les tableaux 1 et 2 pourront être utilisés pour l'analyse par RT-PCR du niveau d'expression génique.

Tableau 1 : amorces pour les 22 gènes modulés chez les peaux jeunes

<u>Symbole du gène</u>	<u>Amorces</u>
ADAM15	S : Gacggtgacagtcatactct (SEQ ID N°1) AS : aaagtgtgtccctcactgac (SEQ ID N°2)
ARL4D	S : Ggggaaccacttgactgaga (SEQ ID N°3) AS : aaaggaggagggtctttcca (SEQ ID N°4)
CAP1	S : Gtgtcaacagccagcagaaa (SEQ ID N°5) AS : gcggcatcattcatttcttt (SEQ ID N°6)
CDH1	S : Ggctcaagctatccttgac (SEQ ID N°7) AS : ctgagcccaggagtttgag (SEQ ID N°8)
GLG1	S : agtgtgccatcggagttacc (SEQ ID N°9) AS : caccacgtccaccttcttt (SEQ ID N°10)
GOLGA4	S : ctgaggcaaagcaacatgaa (SEQ ID N°11) AS : tggacgtcgtcaaacacatt (SEQ ID N°12)
H2AFB2	S : totacctcgctgcggttatt (SEQ ID N°13) AS : gccacttgagagatggtggt (SEQ ID N°14)
ICAM1	S : Ggctggagctgtttgagaac (SEQ ID N°15) AS : actgtggggttcaacctctg (SEQ ID N°16)
IFNAR2	S : Gaggcacagtgatgagcaagc (SEQ ID N°17) AS : tcaagacttggggaggcta (SEQ ID N°18)

- 15 -

<u>Symbole du gène</u>	<u>Amorces</u>
IL3RA	S : Ggacgtccagtagcagctgt (SEQ ID N°19) AS : actttgagaaccgctggaga (SEQ ID N°20)
ITGAM	S : Gcttcttcaagcggcaatac (SEQ ID N°21) AS : gtgcacacactgcacacag (SEQ ID N°22)
KHDRBS1	S : Ctgtattgggaaagggtca (SEQ ID N°23) AS : ggggggtccaaagacttcaat (SEQ ID N°24)
LMNA	S : Ctacaccagccaaccagat (SEQ ID N°25) AS : ggtcgaaggacagagactgc (SEQ ID N°26)
MMP7	S : Gagtgccagatgttgcagaa (SEQ ID N°27) AS : aaatgcagggggatctcttt (SEQ ID N°28)
PLCL1	S : Caatggtgagcagaagcaaa (SEQ ID N°29) AS : gaatcgatcctcatggcact (SEQ ID N°30)
PTGES	S : Catgtgagtcctgtgatgg (SEQ ID N°31) AS : gactgcagcaaagacatcca (SEQ ID N°32)
RNPS1	S : Cttataccccaccagctca (SEQ ID N°33) AS : acacagcatccaaaccaaca (SEQ ID N°34)
SAP18	S : Caggcaacacaatgagcact (SEQ ID N°35) AS : cgccactacctagcacacaa (SEQ ID N°36)
SILV	S : Ctggatggtacagccacctt (SEQ ID N°37) AS : ggcactttcaataccctgga (SEQ ID N°38)
SLC31A1	S : Tgcccactaaaccagaac (SEQ ID N°39) AS : gccagactggtctcgaactc (SEQ ID N°40)

<u>Symbole du gène</u>	<u>Amorces</u>
TUBB4	S : Cagtgacctgcaactggaga (SEQ ID N°41) AS : gattggccaaacacgaagt (SEQ ID N°42)
XRCC1	S : Cagccctacagcaaggactc (SEQ ID N°43) AS : tagaagcctggagggtagca (SEQ ID N°44)

Tableau 2 : amorces pour les 23 gènes modulés chez les peaux âgées

<u>Symbole du gène</u>	<u>Amorces</u>
ANXA6	S : Cggagggaattcattgagaa (SEQ ID N°45) AS : gcgtttcctaagctccactg (SEQ ID N°46)
ARPC4	S : Gctgtgaaacaggctgatga (SEQ ID N°47) AS : tggatcaciaaagtccaccaa (SEQ ID N°48)
ATP1A1	S : Tgtgattctggctgagaacg (SEQ ID N°49) AS : tgctcataggctccactgctg (SEQ ID N°50)
CDC37	S : Ccagaagtgccttcgatgtga (SEQ ID N°51) AS : tctgaaaaggggcacatagg (SEQ ID N°52)
CLEC2B	S : Aattgtgggatcaaggaca (SEQ ID N°53) AS : gtgccattcttgctctgtca (SEQ ID N°54)
COX7B	S : Agccaccagaaacgtacacc (SEQ ID N°55) AS : ttggggtaactctgccaac (SEQ ID N°56)
COX7C	S : Ccgtaggagccactatgagg (SEQ ID N°57) AS : ggctgcacctcttaaaatgc (SEQ ID N°58)

- 17 -

<u>Symbole du gène</u>	<u>Amorces</u>
CYC1	S : Ccagctaccatgtcccagat (SEQ ID N°59) AS : tatgccagcttccgactctt (SEQ ID N°60)
DAPK3	S : Tgcacgacatcttcgagaac (SEQ ID N°61) AS : gttcttgtccagcagcatga (SEQ ID N°62)
FGA	S : Tgcagttcagcacctttgac (SEQ ID N°63) AS : tcccattcccacttcttcag (SEQ ID N°64)
HSD17B10	S : Tcatcgagaacccattcctc (SEQ ID N°65) AS : aaatggctactgggcttctc (SEQ ID N°66)
ITPKC	S : Agttccagcctccagactca (SEQ ID N°67) AS : tctcccaagaggcagctctgt (SEQ ID N°68)
MDK	S : Cctgcaactggaagaaggag (SEQ ID N°69) AS : ctttcccttccctttcttg (SEQ ID N°70)
NGB	S : Gggtgacttcatccagaga (SEQ ID N°71) AS : ctgctgctgccttctcttct (SEQ ID N°72)
POLR2G	S : Tctcgacattccatcccttc (SEQ ID N°73) AS : ctcagcttacaagccccaag (SEQ ID N°74)
PSMA5	S : Ggctttgcagtttgagaag (SEQ ID N°75) AS : ctggggtcctttctcatcaa (SEQ ID N°76)
PSME2	S : Caggagaagggtgctggagag (SEQ ID N°77) AS : tcttcacccttgggttgac (SEQ ID N°78)
SF3B2	S : Gccttcttcaagtggcagac (SEQ ID N°79) AS : ccaaaggaacagctctcagg (SEQ ID N°80)

<u>Symbole du gène</u>	<u>Amorces</u>
SNRPA1	S : Aaaatgttcaagggcaaacg (SEQ ID N°81) AS : agatggcccacctttctttt (SEQ ID N°82)
SSBP1	S : Gcgatcaggggatagtgaa (SEQ ID N°83) AS : tggccaaagaagaatcatcc (SEQ ID N°84)
TLE4	S : Gggatttgatccacaccatc (SEQ ID N°85) AS : catctgaccatctgcgctaa (SEQ ID N°86)
TSPAN3	S : Agcagcttggttttcatgt (SEQ ID N°87) AS : aaggacctggtgacatttcg (SEQ ID N°88)
UQCRQ	S : Agtgcagtgggtgatctcg (SEQ ID N°89) AS : ccatggcttacgcctgtaat (SEQ ID N°90)

Il est également possible de quantifier le taux de transcription des gènes par l'analyse du taux de traduction et donc la quantification de protéines produites. Des techniques appropriées à cet objectif sont également bien connues de l'homme du métier. Par conséquent les signatures moléculaires mise en évidence par les inventeurs se reflètent également au niveau des protéines codées par les 45 gènes de l'invention.

L'analyse du taux de transcription des gènes de l'invention est réalisée au sein de l'épiderme, sous le stratum corneum ayant subi l'agression. A cet effet, des prélèvements d'épiderme ou de peau sont réalisés par exemple par la méthode décrite dans Marionnet C. et al, 2003, (prélèvements au dermatome, qui est un instrument permettant de prélever des bandes de peau très fines, de quelques dixièmes de millimètres d'épaisseur) ou toutes autres méthodes de prélèvement (biopsies, punch, kératome ou micro-kératome...).

La présente invention a également pour objet une méthode d'évaluation de l'état de l'épiderme d'un individu humain comprenant l'évaluation de l'homéostasie épidermique de la peau de cet individu selon l'une des méthodes de l'invention.

En particulier, la présente invention a pour objet l'utilisation d'une analyse du niveau d'expression de tout ou partie des gènes de l'invention dans un but de diagnostic de la fonction homéostasique de la peau, le niveau d'expression après tape stripping de tout ou partie de ces gènes après quelques heures, préférentiellement à 6h ou à 30h, étant caractéristique de l'âge de l'individu ou des déficiences de sa fonction homéostasique.

La technique consiste à suivre après quelques heures, de préférence à 6h et/ou 30h le niveau d'expression de tout ou partie des gènes de l'invention par toutes technique de quantification de l'expression d'ARNm telles que le northern blot, dot blot, RT-PCR, hybridation sur puces à ADN, méthode SAGE, utilisation de cartes microfluidique...

L'étude transcriptomique de ces gènes est rendue possible grâce à une standardisation à l'aide des gènes de ménage identifiés par les inventeurs consistant en S100A10, ACTR1A, RPL28, RPL5, RPL35, RPS13, RPS23, RPS16, RPL18, RPS15A, RPL7A, RPS28, G3BP1, TMSB4X, HLA-C, DYNLL1, NACA, ARHA, BAI2, UBA52 et GNAS.

Par exemple, des amorces pourront être utilisés pour l'analyse par RT-PCR du niveau de l'expression génique correspondant à celles illustrées dans les tableaux 1 et 2.

La présente invention concerne également des méthodes de diagnostic, permettant de mettre en évidence des déficiences au niveau de l'homéostasie épidermique d'une peau humaine, telles que les déficiences observées pour une peau âgée. Un tel diagnostic de l'état de l'épiderme d'un individu humain comprend l'évaluation de la fonction homéostasique ou homéostasie épidermique de la peau dudit individu selon l'une des méthodes décrites plus haut. Par cette méthode, les signatures géniques mises en évidence par les inventeurs permettent de déceler des individus dont la fonction barrière et/ou l'homéostasie de la peau présentent des déficiences et qui de ce fait sont fragilisées. Un tel diagnostic peut donc permettre de conclure à la nécessité de traiter la peau pour en renforcer l'homéostasie et/ou la fonction barrière épidermique et ainsi les préserver. En effet, une déficience dans l'homéostasie épidermique est synonyme de fragilisation de la peau, et d'inconforts comme ceux dont souffrent les personnes âgées.

De préférence, le diagnostic est réalisé sur un individu âgé d'au moins 20, voire d'au moins 30, 40, 50, 55, 60 ou 65 ans. La méthode de diagnostic selon la présente

invention peut également être appropriée pour des personnes ayant subi des traitements importants susceptibles d'avoir modifié l'homéostasie épidermique, notamment des traitements topiques.

5 Selon les méthodes d'évaluation et de diagnostic de la présente invention, la peau évaluée peut être qualifiée de peau de type « âgé » si

- aucune modulation significative du niveau d'expression d'un ou plusieurs gène(s) choisi(s) parmi les gènes ADAM15, ARL4D, CAP1, CDH1, GLG1, GOLGA4, H2AFB2, ICAM1, IFNAR2, IL3RA, ITGAM, KHDRBS1, LMNA, MMP7, PLCL1, PTGES, RNPS1, SAP18, SILV, SLC31A1, TUBB4 et XRCC1
10 n'est observée au sein de l'épiderme en réponse à une agression physique ou chimique du stratum corneum, et/ou
- une modulation significative du niveau d'expression d'un ou plusieurs gène(s) choisi(s) parmi les gènes ANXA6, ARPC4, ATP1A1, CDC37, CLEC2B, COX7B, COX7C, CYC1, DAPK3, FGA, HSD17B10, ITPKC, MDK, NGB, POLR2G,
15 PSMA5, PSME2, SF3B2, SNRPA1, SSBP1, TLE4, TSPAN3 et UQCRQ est observée au sein de l'épiderme en réponse à une agression physique ou chimique du stratum corneum.

La peau diagnostiquée peut également être qualifiée de peau de type « âgé » si le niveau de modulation d'au moins l'un des gènes de l'invention au sein de l'épiderme en
20 réponse à une agression du stratum corneum s'écarte de plus de 30%, de préférence de plus de 50% de la modulation moyenne normalement observée pour une peau d'un sujet âgé d'environ 25 ans, de préférence 30 heures après l'agression physique ou chimique. La modulation moyenne normalement observée pour un individu d'environ 25 ans correspond à la modulation dite de référence.

25 Dans le cadre de la présente invention, la peau évaluée est qualifiée de peau de type « jeune » si sa fonction homéostatique est normale et de peau de type « âgée » si elle est altérée.

Plus particulièrement, selon les méthodes d'évaluation et de diagnostic de la présente invention, la peau évaluée est qualifiée de peau de type « jeune » si

- 30 - une modulation significative du niveau d'expression d'un ou plusieurs gène(s) choisi(s) parmi les gènes ADAM15, ARL4D, CAP1, CDH1, GLG1, GOLGA4,

H2AFB2, ICAM1, IFNAR2, IL3RA, ITGAM, KHDRBS1, LMNA, MMP7, PLCL1, PTGES, RNPS1, SAP18, SILV, SLC31A1, TUBB4 et XRCC1 est observée au sein de l'épiderme en réponse à une agression physique ou chimique du stratum corneum, et/ou

- 5 - aucune modulation significative du niveau d'expression d'un ou plusieurs gène(s) choisi(s) parmi les gènes ANXA6, ARPC4, ATP1A1, CDC37, CLEC2B, COX7B, COX7C, CYC1, DAPK3, FGA, HSD17B10, ITPKC, MDK, NGB, POLR2G, PSMA5, PSME2, SF3B2, SNRPA1, SSBP1, TLE4, TSPAN3 et UQCRCQ n'est observée au sein de l'épiderme en réponse à une agression
- 10 physique ou chimique du stratum corneum.

La peau diagnostiquée peut également être qualifiée de peau de type « jeune » si le niveau de modulation d'au moins l'un des gènes de l'invention au sein de l'épiderme en réponse à une agression du stratum corneum s'écarte de plus de 30%, de préférence de plus de 50% de la modulation moyenne normalement observée pour une peau d'un sujet

15 âgé d'environ 60 ou 65 ans, de préférence 30 heures après l'agression physique ou chimique. La modulation moyenne normalement observée pour un individu d'environ 60 ou 65 ans correspond à la modulation dite de référence.

La variation entre la modulation d'un gène de l'invention au niveau de la peau diagnostiquée et la modulation moyenne est calculée de la façon suivante :

20
$$\frac{[\text{Niveau de modulation observée} - \text{Niveau de modulation de référence}]}{\text{Niveau de modulation de référence.}}$$

Comme expliqué dans les parties précédentes, l'intensité de modulation peut être normalisée à l'aide du niveau d'expression des gènes dits de ménage qui sont choisis parmi les gènes : S100A10, ACTR1A, RPL28, RPL5, RPL35, RPS13, RPS23, RPS16,

25 RPL18, RPS15A, RPL7A, RPS28, G3BP1, TMSB4X, HLA-C, DYNLL1, NACA, ARHA, BAI2, UBA52 et GNAS, de préférence choisis parmi RPL28, RPL5, RPL35, RPS13, RPS23, RPS16, RPL18, RPS15A, RPL7A, RPS28, G3BP1, TMSB4X, HLA-C, DYNLL1, NACA, ARHA, BAI2, UBA52 et GNAS.

De préférence la modulation de l'expression d'au moins l'un des gènes de l'invention s'écarte de plus de 60% de la modulation de référence, voire de plus de 90% de la modulation de référence.

30

De préférence, afin de parvenir à un diagnostic fiable, il est préférable d'analyser les différences de modulation d'au moins 2, 3, 4 voire 5 ou 6 gènes parmi les gènes mentionnés. Selon des modes de réalisation tout particulièrement préférés, il est conclu à une peau ayant un comportement de type « peau âgée » si au moins 8 ou 10 des gènes de l'invention présentent une modulation fortement différente de la modulation de référence.

Un autre but de la présente invention est relatif à l'utilisation d'une analyse du niveau d'expression des gènes décrits dans la présente invention pour évaluer l'effet anti-âge d'un produit (actif, molécule, extrait naturel), mais aussi d'un procédé (lumière, injection, voie orale), seul ou combinés, en testant leur capacité à normaliser la réponse de l'épiderme de type « âgé » à une agression. Par « capacité à normaliser », on entend plus particulièrement la capacité à rapprocher le profil d'expression génique d'un ou plusieurs gènes de l'invention en réponse à une agression du stratum corneum du profil de référence d'une peau jeune et saine. L'apport bénéfique d'un tel produit ou procédé anti-âge se caractérise par sa capacité à moduler le profil d'expression génique des individus âgés afin de le rapprocher du profil d'expression génique d'un individu jeune.

L'apport bénéfique d'un tel produit ou procédé anti-âge se caractérise notamment par sa capacité à modifier le niveau d'expression au niveau de l'épiderme en réponse à une agression du stratum corneum d'un ou plusieurs gènes du groupe A et/ou du groupe B, de sorte à tendre vers une modulation significative du niveau de modulation du ou des gènes du groupe A, et/ou à tendre vers une absence de modulation significative du niveau de modulation du ou des gènes du groupe B.

En outre, l'apport bénéfique d'un produit ou procédé anti-âge se caractérise également par sa capacité à

- 25 i) induire chez les individus âgés l'expression de tout ou partie des gènes ADAM15, ARL4D, CAP1, CDH1, GLG1, GOLGA4, H2AFB2, ICAM1, IFNAR2, IL3RA, ITGAM, KHDRBS1, LMNA, MMP7, PLCL1, PTGES, RNPS1, SAP18, SILV, SLC31A1, TUBB4, XRCC1 ou DAPK3 après une agression du stratum corneum, et/ou
- 30 ii) réprimer chez les individus âgés l'expression de tout ou partie des gènes ANXA6, ARPC4, ATP1A1, CDC37, CLEC2B, COX7B, COX7C, CYC1, FGA,

HSD17B10, ITPKC, MDK, NGB, POLR2G, PSMA5, PSME2, SF3B2, SNRPA1, SSBP1, TLE4, TSPAN3, UQCRQ après une agression du stratum corneum.

De préférence, l'effet inducteur ou répresseur est observé 30h après tape stripping ou dès 6h pour le gène LMNA.

5 La présente invention concerne donc également une méthode de détermination de l'efficacité d'un traitement de l'épiderme d'un individu, comprenant l'évaluation de la fonction homéostasique de la peau avant et après traitement par une méthode telle que décrite plus haut. En effet, la signature représentative des différences d'expression génique suite à une altération du stratum corneum peut être utilisée pour déterminer
10 l'efficacité d'un traitement de l'épiderme. A cette fin, il faut déterminer ladite signature avant et après la mise en œuvre du traitement dont on cherche à déterminer l'efficacité, de préférence sur une peau âgée.

De préférence, le procédé de détermination de l'efficacité d'un traitement est mis en œuvre sur la peau d'un individu âgé d'au moins 20 ou 30 ans, de préférence d'au
15 moins 40 ou 50 ans, voire d'au moins 60 ou 65 ans.

Grâce à cette méthode, il est ainsi possible de déterminer la capacité de certains traitements, notamment des compositions cosmétiques pour application topique sur la peau ou des compléments alimentaires, ou de certains procédés de cosmétique instrumentale (lumière, injection, iontophorèse,...) à renforcer l'homéostasie épidermique
20 et donc leur capacité à réaliser un « rajeunissement » de la peau. Par « rajeunissement » de la peau, on entend l'amélioration de l'homéostasie épidermique telle que le comportement de la peau en réponse à une agression redevient plus proche du comportement d'une peau de type « jeune » en réponse à cette même agression.

La présente invention concerne également une méthode de criblage de molécules
25 pour leur action bénéfique sur l'homéostasie de l'épiderme humain, comprenant l'évaluation de l'homéostasie épidermique de la peau d'un individu humain par une méthode telle que décrite précédemment, avant et après application de la molécule à cribler.

Comme détaillé plus haut, les signatures représentatives mises en évidence par
30 les inventeurs permettent en effet de mettre en évidence l'amélioration de l'homéostasie épidermique et/ou la fonction barrière des peaux âgées. Une telle amélioration se

caractérise précisément par un niveau de modulation après traitement plus proche du niveau de modulation observé pour la peau d'un sujet jeune.

La présente invention a également pour objet une méthode pour tester des traitements pour leur effet bénéfique sur l'homéostasie épidermique humaine, comprenant
5 l'évaluation de l'homéostasie épidermique de la peau d'un individu par une méthode telle que décrite plus haut, avant et après mise en œuvre du traitement à tester. L'utilisation des signatures moléculaires définies par les inventeurs à cette fin, est identique à celle détaillée plus haut pour le procédé de criblage de molécules pour leur action bénéfique sur l'homéostasie épidermique.

10 De préférence, un procédé de test tel que décrit est mis en œuvre sur un individu âgé d'au moins 20 ou 30 ans, de préférence d'au moins 40 ou 50 ans, et encore préférentiellement d'au moins 60 voire 65 ans.

Les procédés de test et de criblage selon la présente demande peuvent être réalisés in vivo ou in vitro sur des échantillons de peau. De préférence, les échantillons de
15 peau sont dans ce cas prélevés sur un individu âgé d'au moins 20 ou 30 ans, de préférence d'au moins 40 ou 50 ans, et encore préférentiellement d'au moins 60 voire 65 ans.

Les traitements qui peuvent ainsi être évalués pour leur action positive sur l'homéostasie épidermique sont par exemple l'application locale d'ondes
20 électromagnétiques ou de toutes composition, produit ou molécule chimique, ou bien l'injection ou l'ingestion d'une composition, produit ou molécule chimique. De préférence, il s'agit d'un traitement local topique.

Par produit, on entend aussi bien un ingrédient ou un principe actif sous une forme plus ou moins purifiée, notamment une molécule chimique, présentant une activité
25 intrinsèque *in vitro* ou *in vivo*, qu'une formulation comprenant un ou plusieurs de ces ingrédients et un support et des adjuvants adaptés à l'application visée.

Dans les méthodes d'évaluation de l'efficacité selon la présente invention, le traitement ou la molécule testée est considéré comme efficace s'il est observé :

- l'augmentation du niveau de modulation du niveau d'expression d'au moins un
30 gène choisi parmi les gènes ADAM15, ARL4D, CAP1, CDH1, GLG1, GOLGA4,

H2AFB2, ICAM1, IFNAR2, IL3RA, ITGAM, KHDRBS1, LMNA, MMP7, PLCL1, PTGES, RNPS1, SAP18, SILV, SLC31A1, TUBB4 et XRCC1, et/ou

- la diminution du niveau de modulation du niveau d'expression d'au moins un gène ANXA6, ARPC4, ATP1A1, CDC37, CLEC2B, COX7B, COX7C, CYC1, DAPK3, FGA, HSD17B10, ITPKC, MDK, NGB, POLR2G, PSMA5, PSME2, SF3B2, SNRPA1, SSBP1, TLE4, TSPAN3 et UQCRQ,

au sein de l'épiderme, en réponse à une agression physique ou chimique du stratum corneum, et après mise en œuvre dudit traitement ou application de ladite molécule.

De préférence, l'augmentation ou la diminution du niveau de modulation de l'expression est observée 30 heures après l'agression physique ou chimique du stratum corneum.

Dans les méthodes d'évaluation de l'efficacité selon la présente invention, le traitement ou la molécule testée est également considéré comme efficace s'il est observé :

- i) l'induction de l'expression de tout ou partie des gènes ADAM15, ARL4D, CAP1, CDH1, GLG1, GOLGA4, H2AFB2, ICAM1, IFNAR2, IL3RA, ITGAM, KHDRBS1, LMNA, MMP7, PLCL1, PTGES, RNPS1, SAP18, SILV, SLC31A1, TUBB4, XRCC1 ou DAPK3, et/ou
- ii) la répression de l'expression de tout ou partie des gènes ANXA6, ARPC4, ATP1A1, CDC37, CLEC2B, COX7B, COX7C, CYC1, FGA, HSD17B10, ITPKC, MDK, NGB, POLR2G, PSMA5, PSME2, SF3B2, SNRPA1, SSBP1, TLE4, TSPAN3, UQCRQ,

au sein de l'épiderme, en réponse à une agression du stratum corneum, et après mise en œuvre dudit traitement ou application de ladite molécule.

De préférence, l'effet inducteur ou répresseur est observé 30h après tape stripping ou dès 6h pour le gène LMNA.

De préférence, pour être évalué positivement, il est préférable que la molécule ou le traitement testé entraîne une modification du niveau d'expression d'au moins deux gènes, de préférence d'au moins 3 ou 4 gènes voire d'au moins 5 ou 10 gènes parmi les 45 gènes de l'invention.

De préférence également, l'effet inducteur ou répressif observé après traitement représente une variation d'au moins 30% après application de la molécule ou du

traitement. De préférence, les différences observées sont même supérieures, de préférence au moins 50%, voire plus, par exemple au moins 60%.

Du fait que les inventeurs ont déterminé deux signatures représentatives respectivement de l'homéostasie épidermique d'une peau de type « jeune » et « agé », il
5 est également possible, par les méthodes d'évaluation de la présente demande, d'objectiver l'action bénéfique d'un traitement, notamment d'un produit cosmétique, par exemple d'une composition cosmétique. Les méthodes d'évaluation décrites plus haut peuvent en effet être utilisées dans un protocole de test permettant de déterminer les produits susceptibles d'être qualifiés de « actifs sur la fonction barrière de la peau » ou
10 bien « ayant un effet anti-âge » ou « effet de rajeunissement de la peau ».

Par ailleurs, au moyen de ce test, il est possible de promouvoir le produit auprès de consommateurs, en mettant en avant les résultats obtenus avec ce produit dans les méthodes d'évaluation de l'homéostasie épidermique décrites dans la présente invention. L'évaluation de l'homéostasie épidermique sera basée sur l'étude du niveau d'expression
15 des gènes de l'invention ou des protéines encodées par ces gènes. La présente invention fournit donc également une méthode permettant de recommander un produit en signalant son effet dans un protocole de test constitué par une méthode d'évaluation telle que décrite précédemment. L'invention a donc également pour objet une méthode pour la promotion d'un produit cosmétique consistant à faire état d'une efficacité, action ou
20 propriété dudit produit démontrée par au moins un test opéré tel que décrit précédemment.

Une telle promotion du produit pourra se faire par n'importe quel canal de communication. Elle pourra être faite notamment par la vendeuse, directement sur le point de vente, par la radio et la télévision, notamment dans le cadre de spots publicitaires. Elle pourra être faite également par le canal de la presse écrite, ou par le biais de tout autre
25 document, en particulier à des fins publicitaires (prospectus). Elle pourra se faire également par INTERNET, ou par tout autre réseau informatique adéquat. Elle pourra être faite également directement sur le produit, notamment sur son packaging ou sur toute notice explicative qui peut lui être associée.

Les méthodes d'évaluation selon la présente invention peuvent être mises en
30 œuvre à des fins cosmétiques ou thérapeutiques. De préférence, les méthodes d'évaluation selon la présente invention sont mises en œuvre à des fins du traitement

cosmétique de la peau. Selon une mise en œuvre particulière, les méthodes d'évaluation selon la présente invention ne sont pas mises en œuvre à des fins thérapeutiques.

La présente invention a également pour objet un kit permettant de déterminer l'état
5 plus ou moins performant de la fonction homéostatique d'une peau sur la base de
l'analyse de l'expression des gènes constituant la signature représentative des différences
d'expression génique existant entre la peau humaine jeune et la peau âgée, suite à une
altération de la fonction barrière, par exemple par tape stripping. Ledit kit pour l'évaluation
10 de l'homéostasie épidermique de la peau d'un sujet, comprend un moyen pour réaliser
une agression physique ou chimique du stratum corneum, un moyen pour réaliser un
prélèvement d'épiderme et un moyen pour déterminer le niveau d'expression d'au moins
un gène de l'invention.

De préférence, pour les raisons mentionnées précédemment dans la demande, le
kit comprend des moyens permettant de déterminer le niveau d'expression d'au moins 2, 3,
15 4, 5, 6, 8 ou 10 voire au moins 20, 30 ou 45 des gènes de l'invention.

Le kit peut bien entendu comprendre des éléments supplémentaires, tels que
différents contrôles, positifs ou négatifs. Avantageusement, un kit selon l'invention
comprend également un moyen pour déterminer le niveau d'expression d'au moins un
gène choisi parmi les gènes dits de ménage, c'est-à-dire parmi les gènes S100A10,
20 ACTR1A, RPL28, RPL5, RPL35, RPS13, RPS23, RPS16, RPL18, RPS15A, RPL7A,
RPS28, G3BP1, TMSB4X, HLA-C, DYNLL1, NACA, ARHA, BAI2, UBA52 et GNAS.

De préférence, un kit selon l'invention permet de réaliser deux prélèvements
épidermiques et permet de déterminer au moins deux fois le niveau d'expression du gène
choisi, avant altération du corneum stratum et après, ou bien sur une zone agressée et sur
25 une zone non-agressée.

Le kit de l'invention peut également comprendre des instructions concernant son
utilisation et les temps à respecter entre les différents prélèvements et l'altération du
stratum corneum.

A la lecture des différentes méthodes selon l'invention, il apparaît clairement à
30 l'homme du métier ce que doit contenir un tel kit pour mettre en œuvre lesdites méthodes.

L'invention va maintenant être décrite plus en détails dans une de ces mises en oeuvre.

Partie expérimentale

5 **1. Méthodologie**

Recrutement des volontaires : des volontaires masculins sains ont été recrutés afin de participer à une étude transcriptomique de plus de 4000 gènes connus pour être exprimés dans la peau. 5 groupes de 6 individus jeunes (25 +/- 4 ans) et 5 groupes de 6 individus âgés (67 +/- 4 ans) ont été recrutés pour cette étude, après signature d'un
10 consentement éclairé.

Altération du stratum corneum : un tape stripping a été réalisé sur la face interne de l'un de leurs avant-bras, choisi de façon randomisée, jusqu'à ce que le stratum corneum soit entièrement enlevé et que la peau présente un aspect lisse et brillant (48 +/- 7 strips en moyenne). Pour cela, un ruban adhésif 3M™ Blenderm™ a été utilisé (St Paul,
15 MI, USA). Le second avant-bras n'a subi aucun traitement.

Prélèvements d'épiderme : des échantillons d'épiderme d'une superficie de 1.5 cm X 1.5 cm ont été prélevés sous anesthésie locale à l'aide d'un dermatome GA630 (AESCULAP, Melsungen, Allemagne). Les prélèvements ont eu lieu sur peaux strippées et non strippées. L'épaisseur de prélèvement a été fixée à 200 µm selon le protocole
20 décrit par Marionnet et al en 2003, afin de ne prélever que l'épiderme et réduire au minimum la contamination dermique. Les prélèvements ont été effectués sur les deux avant-bras 02h, 06h, 19h, 30h et 72h après stripping.

Extraction d'ARNs : les échantillons d'épiderme ont été placés dans le tampon de lyse Rneasy (Qiagen, Courtaboeuf, France) immédiatement après prélèvement. Les tissus
25 ont alors été broyés à l'aide d'un mortier stérile. Le lysat tissulaire a été homogénéisé (colonnes QIAshredder, Qiagen, Courtaboeuf, France) et les ARN totaux ont été extraits selon la méthode Rneasy (Qiagen, Courtaboeuf, la France). Une digestion de l'ADN a été effectuée pour éliminer toute contamination génomique (DNAse1, Qiagen, Courtaboeuf, France). La concentration et la pureté des ARN totaux ont été déterminées par mesure
30 d'absorbance à 260 nm et 280 nm. L'intégrité de l'ARN a été vérifiée par l'électrophorèse

sur gel d'agarose après marquage au bromure d'Ethidium. Les échantillons d'ARN ont alors été précipités à l'aide d'une solution acide fortement saline (0.1 volume d'acétate de sodium 2M, pH4) et d'éthanol (2.5 volumes d'éthanol froid 100 %). Les échantillons ont été stockés à -80°C jusqu'à leur utilisation.

- 5 Hybridations sur Dermarray cDNA microarray : des aliquotes correspondants à 2.5 µg d'ARN ont été prélevés et précipités par centrifugation. Les ARN ont été lavés, séchés puis solubilisés dans de l'eau stérile RNase free. Des Oligos (dT) 12-18 mer, un mélange de dATP, dTTP et dGTP, l'AMV reverse transcriptase (Invitrogen SARL, Cergy Pontoise, la France) et du dCTP marqué au ³³P (Amersham) et ont été utilisés pour la reverse
- 10 transcription des mRNA selon les recommandations des fabricants. Les échantillons d'épiderme témoins ont été retro transcrits simultanément aux échantillons strippés. Les sondes ainsi réalisées ont été purifiées sur colonne de chromatographie biospin6 (Bio-Rad, Hercules, CA, USA). L'incorporation aux sondes de ³³P a été mesurée par β -scintillation. La même quantité de sonde des échantillons d'épidermes contrôles et strippés a été utilisée
- 15 pour l'hybridation sur membranes DermArray ® cDNA microarray (IntegriDerm, Birmingham, AL-, USA) selon les recommandations du fabricant.

- Quantification et correction du signal : les puces ont été analysées en utilisant un scanner Cyclone Phosphore Imager 16 bits permettant une analyse à haute résolution (Packard Instruments, Perkin-Elmer Life Sciences, Boston, MA, USA). Les images ont
- 20 alors été importées dans le logiciel Image 5 (Biodiscovery, El Segundo, CA, USA) pour la quantification du signal puis les signaux ont été corrigés à l'aide du logiciel Genesight (Biodiscovery, El Segundo, CA, USA). Une correction locale du bruit de fond a été exécutée et les signaux positifs ont été normalisés d'une membrane contrôle par rapport à son témoin.

- 25 Analyse des données : un ratio d'expression a été calculé divisant le signal corrigé de l'échantillon traité par le signal corrigé de l'échantillon contrôle. Un ratio d'expression moyen R a été calculé à chaque temps pour chaque gène exprimé chez au moins 50% des individus de chaque groupe.

- Sélection des gènes modulés dans chaque population : il a été considéré qu'un
- 30 gène était modulé si son expression est significativement différente entre épidermes strippés et épidermes contrôles (test de Student, $p < 0.05$) ; et si au moins 50 % des

volontaires du groupe présentent un ratio supérieur à 2 et aucun ne présente un ratio inférieur à 0.5 (gènes induits), et inversement pour des gènes réprimés. Enfin, ont été sélectionnés les gènes modulés au moins une fois dans le temps.

Sélection des gènes différentiellement modulés selon l'âge : une liste de gènes exprimés a été établie chez les individus jeunes et âgés. Certains sont exprimés dans les deux populations mais avec une cinétique d'expression significativement différente. Ces gènes ont fait l'objet d'un premier dépôt de brevet (FR08/04169). D'autres sont exprimés dans les deux populations mais ne sont modulés de façon significative (selon les critères établis précédemment) que dans l'une ou l'autre des populations. Parmi ces gènes, les plus représentatifs de l'âge du patient ont été sélectionnés comme suit, puis filtrés :

- (i) dans un premier temps tous les gènes EST ont été éliminés ;
- (ii) ensuite, la commercialisation des membranes Dermarray étant ancienne, les annotations de certains gènes étaient obsolètes. L'accèsion des gènes a été vérifiée et les gènes présentant une identification contradictoire ont été éliminés.
- (iii) un dernier tri a été établi afin de sélectionner parmi ces gènes ceux dont l'expression après tape stripping est la plus différente entre jeunes et âgés. Pour cela, une distance a été calculée prenant en compte les temps 06h et 30h (temps auxquels les profils étaient les plus différents entre jeunes et âgés) selon l'équation suivante :

$$\text{Distance jeunes/âgés} = \text{Abs} [\text{Log2} (R^{J-06h}) - \text{Log2} (R^{A-06h}) + \text{Log2} (R^{J-30h}) - \text{Log2} (R^{A-30h})]$$

avec : R^{J-06h} = Ratio d'expression moyen obtenu chez les individus jeunes à 06h

R^{A-06h} = Ratio d'expression moyen obtenu chez les individus âgés à 06h

R^{J-30h} = Ratio d'expression moyen obtenu chez les individus jeunes à 30h

R^{A-30h} = Ratio d'expression moyen obtenu chez les individus âgés à 30h

La distance moyenne (D) et l'écartype de cette moyenne (sem^D) ont été calculés. Au final, les gènes modulés de façon spécifique chez les jeunes ou chez les âgés et dont la distance jeunes/âgés est d'au moins $D + 2\text{sem}^D$ ont été sélectionnés comme étant les gènes dont l'expression après tape stripping est la plus différente entre jeunes et âgés.

2. Résultats

89 gènes sont modulés de façon significative chez les individus âgés et 81 gènes sont modulés de façon significative chez les individus jeunes. De façon surprenante et inattendue, les inventeurs ont identifié 22 gènes modulés de façon spécifique chez les individus jeunes et dont l'expression est significativement différente de celle des individus âgés (tableau 3). De même, les inventeurs ont identifié 23 gènes modulés de façon spécifique chez les individus âgés et dont l'expression est significativement différente de celle des individus jeunes (tableau 4).

Enfin, 108 gènes n'ont montré aucune différence significative d'expression en fonction du temps ni en fonction de l'âge (données non montrées). Ces derniers peuvent être considérés comme gènes de ménage. Seuls 2 d'entre eux, les gènes **S100A10** et **ACTR1A**, ont vu leur niveau d'expression varier suite au tape stripping. Les autres gènes ne sont pas modulés. Les inventeurs en ont sélectionnés 19 dont le profil est proche entre jeunes et âgés. Ce sont pour la plupart des composants ribosomaux connus en tant que gènes de ménages (**RPL28, RPL5, RPL35, RPS13, RPS23, RPS16, RPL18, RPS15A, RPL7A, RPS28**). D'autres tels que **G3BP1, TMSB4X, HLA-C, DYNLL1, NACA, ARHA, BAI2, UBA52, GNAS** ne sont pas connus ni utilisés en tant que tel (tableau 5).

3. Conclusions

Trois listes de gènes d'intérêts ont été établies :

La **Liste 1** (Tableau 3) regroupe 22 gènes dont l'expression est modulée de façon spécifique chez les individus jeunes. La **Liste 2** (Tableau 4) regroupe 23 gènes dont l'expression est modulée de façon spécifique chez les individus âgés. La **Liste 3** (Tableau 5) regroupe 21 gènes de ménage dont l'expression ne varie pas selon l'âge des volontaires. Le niveau d'expression des gènes de la liste 1 et de la liste 2 chez les sujets âgés après tape stripping est le reflet moléculaire du dysfonctionnement de la fonction homéostatique de l'épiderme dû à l'âge. L'analyse du niveau d'expression de ces gènes constitue une solution nouvelle au problème que pose l'évaluation de l'efficacité d'actifs ou de procédés anti-âge susceptibles d'améliorer le renouvellement et l'homéostasie

épidermique, et au problème que pose le diagnostic de l'état plus ou moins âgé de la peau. L'analyse du niveau d'expression de ces gènes peut être menée et standardisée grâce à la présence de gènes de ménage listés dans le tableau 5.

5 **Tableau 3** : Liste de 22 gènes dont l'expression est modulée de façon spécifique chez les individus jeunes et dont la distance Jeunes / âgés > D + 2sem^D

<u>N° d'accession</u>	<u>Symbole du gène</u>	<u>Nom du gène</u>	<u>Ratio moyen d'expression</u>			
			<u>Jeunes</u>		<u>Agés</u>	
			<u>6h</u>	<u>30h</u>	<u>6h</u>	<u>30h</u>
NM_207196	ADAM15	a disintegrin and metalloproteinase domain 15 (metargidin)	1.96		1.02	
NM_001661	ARL4D	ADP-ribosylation factor-like 4D	3.89		1.22	
NM_006367	CAP1	CAP, adenylate cyclase-associated protein 1	2.46		1.13	
NM_004360	CDH1	cadherin 1, type 1, E-cadherin (epithelial)	2.87		1.47	
NM_012201	GLG1	golgi apparatus protein 1	2.06		0.82	
NM_002078	GOLGA4	golgi autoantigen, golgin subfamily a, 4	2.27		1.28	
NM_0010179 91	H2AFB2	H2A histone family, member B2	2.41		1.10	
NM_000201	ICAM1	intercellular adhesion molecule 1	2.76		1.45	
NM_207585	IFNAR2	interferon (alpha, beta and omega) receptor 2	2.69		1.44	
NM_002183	IL3RA	interleukin 3 receptor, alpha (low affinity)	2.89		1.59	
NM_000632	ITGAM	integrin, alpha M (complement component 3 receptor 3 subunit)	3.33		1.31	
NM_006559	KHDRBS1	KH domain containing, RNA binding, signal transduction associated 1	2.95		1.03	
NM_170707	LMNA	lamin A/C	3.40	2.08	1.84	1.64
NM_002423	MMP7	matrix metalloproteinase 7	1.90		0.98	
NM_0011146 61	PLCL1	phospholipase C-like 1	2.99		1.70	
NM_004878	PTGES	prostaglandin E synthase	2.93		1.48	
NM_080594	RNPS1	RNA binding protein S1, serine-rich domain	2.69		1.06	

- 33 -

NM_005870	SAP18	Sin3A-associated protein, 18kDa	3.17		1.73	
NM_006928	SILV	silver homolog (mouse)	2.66		0.98	
NM_001859	SLC31A1	solute carrier family 31 (copper transporters), member 1	2.90		1.32	
NM_006087	TUBB4	tubulin, beta 4	3.84		1.77	
NM_006297	XRCC1	X-ray repair complementing defective repair in Chinese hamster cells 1	2.38		1.33	

Tableau 4 : Liste de 23 gènes dont l'expression est modulée de façon spécifique chez les individus âgés et dont la distance Jeunes / âgés > D + 2sem

N° d'accension	Symbole du gène	Nom du gène	Ratio moyen d'expression			
			Jeunes		Agés	
			6h	30h	6h	30h
NM_001155	ANXA6	annexin A6		1.29		3.13
NM_005718	ARPC4	actin related protein 2/3 complex, subunit 4 (20 kD)		1.08		2.31
NM_000701	ATP1A1	ATPase, Na ⁺ /K ⁺ transporting, alpha 1 polypeptide		1.53		3.47
NM_007065	CDC37	CDC37 (cell division cycle 37, S. cerevisiae, homolog)		1.42		2.94
NM_005127	CLEC2B	C-type lectin domain family 2, member B		1.22		2.62
NM_001866	COX7B	cytochrome c oxidase subunit VIIb		1.76		3.9
NM_001867	COX7C	cytochrome c oxidase subunit VIIc		1.47		2.76
NM_001916	CYC1	cytochrome c-1		1.4		2.82
NM_001348	DAPK3	death-associated protein kinase 3		1.13		0.45
NM_000508	FGA	fibrinogen, A alpha polypeptide		1.23		3.26
NM_004493	HSD17B10	hydroxysteroid (17-beta) dehydrogenase 10		1.5		2.89
NM_025194	ITPKC	inositol 1,4,5-trisphosphate 3-kinase C		1.35		2.52
NM_0010123 34	MDK	midkine (neurite growth-promoting factor 2)		1.41		2.57
NM_021257	NGB	neuroglobin		1.36		3.18
NM_002696	POLR2G	polymerase (RNA) II (DNA directed) polypeptide G		1.36		2.87
NM_002790	PSMA5	proteasome (prosome, macropain)	2.23	1.54	2.40	3.72

- 34 -

		subunit, alpha type, 5				
NM_002818	PSME2	proteasome (prosome, macropain) activator subunit 2 (PA28 beta)		1.62		2.97
NM_006842	SF3B2	splicing factor 3b, subunit 2, 145kDa		1.47		2.93
BC067846	SNRPA1	small nuclear ribonucleoprotein polypeptide A'		1.17		2.55
NM_003143	SSBP1	single-stranded DNA binding protein 1	2.24	1.35	2.94	3.73
NM_007005	TLE4	transducin-like enhancer of split 4, homolog of Drosophila E(sp1)		1.21		2.77
NM_005724	TSPAN3	tetraspanin 3		1.63		3.56
NM_014402	UQCRQ	ubiquinol-cytochrome c reductase, complex III subunit VII, 9.5kDa		1.46		3.22

Tableau 5 : Liste de 21 gènes de ménage

<u>N° d'accension</u>	<u>Symbole</u>	<u>Nom</u>
AA136500	G3BP1	ESTs
AA423800	TMSB4X	thymosin, beta 4, X chromosome
AA444051	S100A10	S100 calcium-binding protein A10 (annexin II ligand, calpactin I, light polypeptide (p11))
AA464246	HLA-C	major histocompatibility complex, class I, C
AA486746	RPL28	ribosomal protein L28
AA496880	RPL5	ribosomal protein L5
AA625634	RPL35	ribosomal protein L35
AA629641	RPS13	ribosomal protein S13
AA634008	RPS23	ribosomal protein S23
AA644679	DYNLL1	dynein, cytoplasmic, light polypeptide
AA664241	NACA	-nascent-polypeptide-associated complex alpha polypeptide
AA668301	RPS16	ribosomal protein S16
AA676955	ARHA	ras homolog gene family, member A
AA775874	RPL18	ribosomal protein L18
AA777034	BAI2	ESTs, Highly similar to BAI 2 [H.sapiens]
AA856556	RPS28	ribosomal protein S28
AA872341	RPS15A	ribosomal protein S15a

AA878561	UBA52	proteasome_(prosome,_macropain)_subunit,_alpha_type,_7
H23422	RPL7A	ribosomal_protein_L7a
R40850	ACTR1A	H.sapiens_mRNA_for_alpha-centractin
R43581	GNAS	Human_guanine_nucleotide-binding_protein_G-s,_alpha_subunit_mRNA,_partial_cds

Références

1. Barel, A. O. and Clarys, P.; Study of the stratum corneum barrier function by transepidermal water loss measurements: comparison between two commercial instruments: Evaporimeter and Tewameter; 1995; **Skin Pharmacol**; **8** (186-195)
2. Denda, M.; New strategies to improve skin barrier homeostasis; 1-11-2002; **Adv Drug Deliv Rev**; **54 Suppl 1** (S123-S130)
3. Ghadially, R., Brown, B. E., Sequeira-Martin, S. M., Feingold, K. R., and Elias, P. M.; The aged epidermal permeability barrier. Structural, functional, and lipid biochemical abnormalities in humans and a senescent murine model; 1995; **J Clin Invest**; **95** (2281-2290)
4. Grubauer, G., Feingold, K. R., and Elias, P. M.; Relationship of epidermal lipogenesis to cutaneous barrier function; 1987; **J Lipid Res**; **28** (746-752)
5. Grubauer, G., Feingold, K. R., Harris, R. M., and Elias, P. M.; Lipid content and lipid type as determinants of the epidermal permeability barrier; 1989; **J Lipid Res**; **30** (89-96)
6. Kuss, O. and Diepgen, T. L.; Proper statistical analysis of transepidermal water loss (TEWL) measurements in bioengineering studies; 1998; **Contact Dermatitis**; **39** (64-67)
7. Leveque, J. L.; Quantitative assessment of skin aging; 2001; **Clin Geriatr Med**; **17** (673-89, vi)
8. Lock-Andersen, J., Therkildsen, P., de Fine, Olivarius F., Gniadecka, M., Dahlstrom, K., Poulsen, T., and Wulf, H. C.; Epidermal thickness, skin pigmentation and constitutive photosensitivity; 1997; **Photodermatol Photoimmunol Photomed**; **13** (153-158)
9. Marionnet, C., Bernerd, F., Dumas, A., Verrecchia, F., Mollier, K., Compan, D., Bernard, B., Lahfa, M., Leclaire, J., Medaisko, C., Mehul, B., Seite, S., Mauviel, A., and Dubertret, L.; Modulation of gene expression induced in human epidermis by environmental stress in vivo; 2003; **J Invest Dermatol**; **121** (1447-1458)
10. Menon, G. K., Feingold, K. R., Moser, A. H., Brown, B. E., and Elias, P. M.; De novo sterologenesis in the skin. II. Regulation by cutaneous barrier requirements; 1985; **J Lipid Res**; **26** (418-427)
11. Piaserico, S., Larese, F., Recchia, G. P., Corradin, M. T., Scardigli, F., Gennaro, F., Carriere, C., Semenzato, A., Brandolisio, L., Peserico, A., and Fortina, A. B.; Allergic contact sensitivity in elderly patients; 2004; **Aging Clin Exp Res**; **16** (221-225)
12. Piepkorn, M., Lo, C., and Plowman, G.; Amphiregulin-dependent proliferation of cultured human keratinocytes: autocrine growth, the effects of exogenous recombinant cytokine, and apparent requirement for heparin-like glycosaminoglycans; 1994; **J Cell Physiol**; **159** (114-120)
13. Pinnagoda, J., Tupker, R. A., Agner, T., and Serup, J.; Guidelines for transepidermal water loss (TEWL) measurement. A report from the Standardization Group of the European Society of Contact Dermatitis; 1990; **Contact Dermatitis**; **22** (164-178)

14. Proksch, E., Feingold, K. R., Man, M. Q., and Elias, P. M.; Barrier function regulates epidermal DNA synthesis; 1991; **J Clin Invest**; **87** (1668-1673)
15. Rogers, J., Harding, C., Mayo, A., Banks, J., and Rawlings, A.; Stratum corneum lipids: the effect of ageing and the seasons; 1996; **Arch Dermatol Res**; **288** (765-770)
- 5 16. Roskos, K. V., Maibach, H. I., and Guy, R. H.; The effect of aging on percutaneous absorption in man; 1989; **J Pharmacokinet Biopharm**; **17** (617-630)
17. Saint Leger D, FRANCOIS A.M., LEVEQUE J.L., STOUDEMAYER T.J., GROVE G.L., and KLIGMAN A.M.; Age-associated changes in stratum corneum lipids and their relation to dryness; 1988; **Dermatologica**; **1988**, vol. **177**, n°3, pp. **159-164**)
- 10 18. Tanaka, M., Zhen, Y. X., and Tagami, H.; Normal recovery of the stratum corneum barrier function following damage induced by tape stripping in patients with atopic dermatitis; 1997; **Br J Dermatol**; **136** (966-967)
- 15 19. Treffel, P., Panisset, F., Faivre, B., and Agache, P.; Hydration, transepidermal water loss, pH and skin surface parameters: correlations and variations between dominant and non-dominant forearms; 1994; **Br J Dermatol**; **130** (325-328)
- 20 20. Van, Sam, V, Passet, J., Maillols, H., Guillot, B., and Guilhou, J. J.; TEWL measurement standardization: kinetic and topographic aspects; 1994; **Acta Derm Venereol**; **74** (168-170)
21. Wood, L. C., Jackson, S. M., Elias, P. M., Grunfeld, C., and Feingold, K. R.; Cutaneous barrier perturbation stimulates cytokine production in the epidermis of mice; 1992; **J Clin Invest**; **90** (482-487)
22. Zhai, H., Leow, Y. H., and Maibach, H. I.; Human barrier recovery after acute acetone perturbation: an irritant dermatitis model; 1998; **Clin Exp Dermatol**; **23** (11-13)

Revendications

1. Méthode d'évaluation de l'homéostasie épidermique de la peau d'un sujet humain comprenant la détermination du caractère significativement modulé ou non du niveau d'expression d'au moins un gène au sein de l'épiderme en réponse à une agression physique ou chimique du stratum corneum, où ledit gène est choisi parmi les gènes ADAM15, ARL4D, CAP1, CDH1, GLG1, GOLGA4, H2AFB2, ICAM1, IFNAR2, IL3RA, ITGAM, KHDRBS1, LMNA, MMP7, PLCL1, PTGES, RNPS1, SAP18, SILV, SLC31A1, TUBB4, XRCC1, ANXA6, ARPC4, ATP1A1, CDC37, CLEC2B, COX7B, COX7C, CYC1, DAPK3, FGA, HSD17B10, ITPKC, MDK, NGB, POLR2G, PSMA5, PSME2, SF3B2, SNRPA1, SSBP1, TLE4, TSPAN3 et UQCRQ.
2. Méthode selon la revendication 1, comprenant la détermination du caractère significativement modulé ou non du niveau d'expression d'au moins 2, 3, 4, 5, 6, 8 ou 10 gènes au sein de l'épiderme en réponse à une agression physique ou chimique du stratum corneum, où lesdits gènes sont choisis parmi les gènes ADAM15, ARL4D, CAP1, CDH1, GLG1, GOLGA4, H2AFB2, ICAM1, IFNAR2, IL3RA, ITGAM, KHDRBS1, LMNA, MMP7, PLCL1, PTGES, RNPS1, SAP18, SILV, SLC31A1, TUBB4, XRCC1, ANXA6, ARPC4, ATP1A1, CDC37, CLEC2B, COX7B, COX7C, CYC1, DAPK3, FGA, HSD17B10, ITPKC, MDK, NGB, POLR2G, PSMA5, PSME2, SF3B2, SNRPA1, SSBP1, TLE4, TSPAN3 et UQCRQ.
3. Méthode selon la revendication 2 comprenant
 - la détermination du caractère significativement modulé ou non du niveau d'expression d'au moins un gène au sein de l'épiderme en réponse à une agression physique ou chimique du stratum corneum, où ledit gène est choisi parmi les gènes ADAM15, ARL4D, CAP1, CDH1, GLG1, GOLGA4, H2AFB2, ICAM1, IFNAR2, IL3RA, ITGAM, KHDRBS1, LMNA, MMP7, PLCL1, PTGES, RNPS1, SAP18, SILV, SLC31A1, TUBB4 et XRCC1, et
 - la détermination du caractère significativement modulé ou non du niveau d'expression d'au moins un gène au sein de l'épiderme en réponse à une agression physique ou chimique du stratum corneum, où ledit gène est choisi

- 38 -

parmi les gènes ANXA6, ARPC4, ATP1A1, CDC37, CLEC2B, COX7B, COX7C, CYC1, DAPK3, FGA, HSD17B10, ITPKC, MDK, NG2, POLR2G, PSMA5, PSME2, SF3B2, SNRPA1, SSBP1, TLE4, TSPAN3 et UQCRC.

- 5 4. Méthode selon l'une quelconque des revendications précédentes où ladite agression physique ou chimique du stratum corneum est un tape stripping, l'application d'acétone, d'un agent délipidant, d'un agent chimique abrasif acide ou basique, ou bien une méthode physique telle que la chaleur.
- 10 5. Méthode selon l'une quelconque des revendications précédentes où la modulation du niveau d'expression du ou des gène(s) choisi(s) au sein de l'épiderme est normalisé par référence à l'expression d'au moins un gène choisi parmi RPL28, RPL5, RPL35, RPS13, RPS23, RPS16, RPL18, RPS15A, RPL7A, RPS28, G3BP1, TMSB4X, HLA-C, DYNLL1, NACA, ARHA, BAI2, UBA52 et GNAS au sein de
 - 15 l'épiderme correspondant à la région agressée.
 6. Méthode selon l'une quelconque des revendications précédentes où le caractère significativement modulé ou non du niveau d'expression du ou des gène(s) choisi(s) au sein de l'épiderme est déterminée dans les 72 heures suivants
 - 20 l'agression physique ou chimique, de préférence dans les 36 heures.
 7. Méthode selon l'une quelconque des revendications précédentes où l'expression d'un gène est déterminée à l'aide de la quantification du niveau d'expression de l'ARNm ou de la protéine codée par ce gène.
 - 25 8. Méthode d'évaluation de l'état de l'épiderme d'un individu humain comprenant l'évaluation de l'homéostasie épidermique de la peau dudit individu selon l'une des revendications 1 à 7.
 9. Méthode selon la revendication 8, où la peau évaluée est qualifiée de peau de type « âgée » si
 - 30 - aucune modulation significative du niveau d'expression d'un gène choisi parmi les gènes ADAM15, ARL4D, CAP1, CDH1, GLG1, GOLGA4, H2AFB2, ICAM1,

- 39 -

IFNAR2, IL3RA, ITGAM, KHDRBS1, LMNA, MMP7, PLCL1, PTGES, RNPS1, SAP18, SILV, SLC31A1, TUBB4 et XRCC1 n'est observée au sein de l'épiderme en réponse à une agression physique ou chimique du stratum corneum, et/ou

- 5 - une modulation significative du niveau d'expression d'un gène choisi parmi les gènes ANXA6, ARPC4, ATP1A1, CDC37, CLEC2B, COX7B, COX7C, CYC1, DAPK3, FGA, HSD17B10, ITPKC, MDK, NGB, POLR2G, PSMA5, PSME2, SF3B2, SNRPA1, SSBP1, TLE4, TSPAN3 et UQCRQ est observée au sein de l'épiderme en réponse à une agression physique ou chimique du stratum
- 10 corneum.

10. Méthode selon la revendication 8, où la peau évaluée est qualifiée de peau de type « jeune » si

- 15 - une modulation significative du niveau d'expression d'un gène choisi parmi les gènes ADAM15, ARL4D, CAP1, CDH1, GLG1, GOLGA4, H2AFB2, ICAM1, IFNAR2, IL3RA, ITGAM, KHDRBS1, LMNA, MMP7, PLCL1, PTGES, RNPS1, SAP18, SILV, SLC31A1, TUBB4 et XRCC1 est observée au sein de l'épiderme en réponse à une agression physique ou chimique du stratum corneum, et/ou
- 20 - aucune modulation significative du niveau d'expression d'un gène choisi parmi les gènes ANXA6, ARPC4, ATP1A1, CDC37, CLEC2B, COX7B, COX7C, CYC1, DAPK3, FGA, HSD17B10, ITPKC, MDK, NGB, POLR2G, PSMA5, PSME2, SF3B2, SNRPA1, SSBP1, TLE4, TSPAN3 et UQCRQ n'est observée au sein de l'épiderme en réponse à une agression physique ou chimique du stratum corneum.

25

11. Méthode de criblage de molécules pour leur action bénéfique sur l'homéostasie de l'épiderme humain, comprenant l'évaluation de l'homéostasie épidermique de la peau d'un individu humain par une méthode selon l'une des revendications 1 à 8, avant et après application de chacune des molécules à cribler.

30

12. Méthode d'évaluation de l'effet bénéfique d'un traitement sur l'homéostasie épidermique de la peau humaine, comprenant l'évaluation de l'homéostasie

épidermique de la peau d'un individu humain par une méthode selon l'une des revendications 1 à 8, avant et après mise en œuvre dudit traitement.

5 13. Méthode selon la revendication 11 ou 12, où le traitement ou la molécule testée est considéré comme efficace s'il est observé :

- l'augmentation du niveau de modulation du niveau d'expression d'au moins un gène choisi parmi les gènes ADAM15, ARL4D, CAP1, CDH1, GLG1, GOLGA4, H2AFB2, ICAM1, IFNAR2, IL3RA, ITGAM, KHDRBS1, LMNA, MMP7, PLCL1, PTGES, RNPS1, SAP18, SILV, SLC31A1, TUBB4 et XRCC1, et/ou
- 10 - la diminution du niveau de modulation du niveau d'expression d'au moins un gène ANXA6, ARPC4, ATP1A1, CDC37, CLEC2B, COX7B, COX7C, CYC1, DAPK3, FGA, HSD17B10, ITPKC, MDK, NGB, POLR2G, PSMA5, PSME2, SF3B2, SNRPA1, SSBP1, TLE4, TSPAN3 et UQCQRQ,

15 au sein de l'épiderme, en réponse à une agression physique ou chimique du stratum corneum, et après mise en œuvre dudit traitement ou application de ladite molécule.

20 14. Méthode selon la revendication 13 où ledit traitement ou ladite molécule testée est considéré comme efficace si ladite augmentation ou diminution du niveau de modulation de l'expression est observée 30 heures après l'agression physique ou chimique du stratum corneum.

15. Méthode selon la revendication 11 ou 12, où le traitement ou la molécule testée est considéré comme efficace s'il est observé :

- 25 - l'induction du niveau d'expression d'au moins un gène choisi parmi les gènes ADAM15, ARL4D, CAP1, CDH1, GLG1, GOLGA4, H2AFB2, ICAM1, IFNAR2, IL3RA, ITGAM, KHDRBS1, LMNA, MMP7, PLCL1, PTGES, RNPS1, SAP18, SILV, SLC31A1, TUBB4, XRCC1 et DAPK3, et/ou
- la répression du niveau d'expression d'au moins un gène choisi parmi les gènes ANXA6, ARPC4, ATP1A1, CDC37, CLEC2B, COX7B, COX7C, CYC1, 30 FGA, HSD17B10, ITPKC, MDK, NGB, POLR2G, PSMA5, PSME2, SF3B2, SNRPA1, SSBP1, TLE4, TSPAN3 et UQCQRQ,

au sein de l'épiderme, en réponse à une agression physique ou chimique du stratum corneum, et après mise en œuvre dudit traitement ou application de ladite molécule.

16. Méthode selon la revendication 15 où ledit traitement ou ladite molécule testée est considéré comme efficace si ladite induction ou répression est observée 30 heures après un tape stripping, ou dès 6 heures pour le gène LMNA.

5

17. Kit pour l'évaluation de l'homéostasie épidermique de la peau d'un sujet humain, comprenant :

- un moyen pour réaliser une agression physique ou chimique du stratum corneum,
- 10 - un moyen pour réaliser un prélèvement d'épiderme,
- un moyen pour déterminer le niveau d'expression d'au moins un gène choisi parmi les gènes ADAM15, ARL4D, CAP1, CDH1, GLG1, GOLGA4, H2AFB2, ICAM1, IFNAR2, IL3RA, ITGAM, KHDRBS1, LMNA, MMP7, PLCL1, PTGES, RNPS1, SAP18, SILV, SLC31A1, TUBB4, XRCC1,
- 15 ANXA6, ARPC4, ATP1A1, CDC37, CLEC2B, COX7B, COX7C, CYC1, DAPK3, FGA, HSD17B10, ITPKC, MDK, NGB, POLR2G, PSMA5, PSME2, SF3B2, SNRPA1, SSBP1, TLE4, TSPAN3 et UQCRQ, et
- un moyen pour déterminer le niveau d'expression d'au moins un gène choisi parmi les gènes RPL28, RPL5, RPL35, RPS13, RPS23, RPS16,
- 20 RPL18, RPS15A, RPL7A, RPS28, G3BP1, TMSB4X, HLA-C, DYNLL1, NACA, ARHA, BAI2, UBA52 et GNAS.

18. Utilisation d'au moins un gène choisi parmi les gènes ADAM15, ARL4D, CAP1, CDH1, GLG1, GOLGA4, H2AFB2, ICAM1, IFNAR2, IL3RA, ITGAM, KHDRBS1, LMNA, MMP7, PLCL1, PTGES, RNPS1, SAP18, SILV, SLC31A1, TUBB4, XRCC1, ANXA6, ARPC4, ATP1A1, CDC37, CLEC2B, COX7B, COX7C, CYC1, DAPK3, FGA, HSD17B10, ITPKC, MDK, NGB, POLR2G, PSMA5, PSME2, SF3B2, SNRPA1, SSBP1, TLE4, TSPAN3 et UQCRQ pour évaluer l'homéostasie épidermique de la peau d'un sujet humain, comprenant la détermination du caractère significativement modulé ou non du niveau d'expression du ou desdits gènes au sein de l'épiderme en réponse à une agression physique ou chimique du stratum corneum.

30

19. Utilisation selon la revendication 18 comprenant la détermination du caractère significativement modulé ou non du niveau d'expression

- 5 - d'au moins un gène choisi parmi ADAM15, ARL4D, CAP1, CDH1, GLG1, GOLGA4, H2AFB2, ICAM1, IFNAR2, IL3RA, ITGAM, KHDRBS1, LMNA, MMP7, PLCL1, PTGES, RNPS1, SAP18, SILV, SLC31A1, TUBB4 et XRCC1, et
- 10 - d'au moins un gène choisi parmi les gènes ANXA6, ARPC4, ATP1A1, CDC37, CLEC2B, COX7B, COX7C, CYC1, DAPK3, FGA, HSD17B10, ITPKC, MDK, NGB, POLR2G, PSMA5, PSME2, SF3B2, SNRPA1, SSBP1, TLE4, TSPAN3 et UQCRQ,

au sein de l'épiderme en réponse à une agression physique ou chimique du stratum corneum.

B08674 - SQL.ST25
SEQUENCE LISTING

<110> L'Oréal

<120> Signature moléculaire peau âgée (ARIC)

<130> B08674

<160> 90

<170> PatentIn version 3.3

<210> 1

<211> 20

<212> DNA

<213> artificial

<220>

<223> Primer

<400> 1
gacggtgaca gtcatatcct 20

<210> 2

<211> 20

<212> DNA

<213> artificial

<220>

<223> Primer

<400> 2
aaagtgtgtc cctcactgac 20

<210> 3

<211> 20

<212> DNA

<213> artificial

<220>

<223> Primer

<400> 3
ggggaaccac ttgactgaga 20

<210> 4

<211> 20

<212> DNA

<213> artificial

<220>

<223> Primer

<400> 4
aaaggaggga ggtctttcca 20

<210> 5

<211> 20

<212> DNA

<213> artificial

<220>

<223> Primer

<400> 5

gtgtcaacag ccagcagaaa B08674 - SQL.ST25 20

<210> 6
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> artificial

<220>
 <223> Primer

<400> 6
 gcggcatcat tcatttcttt 20

<210> 7
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> artificial

<220>
 <223> Primer

<400> 7
 ggctcaagct atccttgac 20

<210> 8
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> artificial

<220>
 <223> Primer

<400> 8
 cttgagccca ggagtttgag 20

<210> 9
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> artificial

<220>
 <223> Primer

<400> 9
 agtgtgcat cggagttacc 20

<210> 10
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> artificial

<220>
 <223> Primer

<400> 10
 caccacgtcc accttctttt 20

<210> 11
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> artificial

<220>

B08674 - SQL.ST25

<223> Primer

<400> 11

ctgaggcaaa gcaacatgaa

20

<210> 12

<211> 20

<212> DNA

<213> artificial

<220>

<223> Primer

<400> 12

tggacgtcgt caaacacatt

20

<210> 13

<211> 20

<212> DNA

<213> artificial

<220>

<223> Primer

<400> 13

tctacctcgc tgcggttatt

20

<210> 14

<211> 20

<212> DNA

<213> artificial

<220>

<223> Primer

<400> 14

gccacttgag agatggtggt

20

<210> 15

<211> 20

<212> DNA

<213> artificial

<220>

<223> Primer

<400> 15

ggctggagct gtttgagaac

20

<210> 16

<211> 20

<212> DNA

<213> artificial

<220>

<223> Primer

<400> 16

actgtggggt tcaacctctg

20

<210> 17

<211> 20

<212> DNA

B08674 - SQL.ST25

<213> artificial

<220>

<223> Primer

<400> 17

gagcacagtg atgagcaagc

20

<210> 18

<211> 20

<212> DNA

<213> artificial

<220>

<223> Primer

<400> 18

tcaagacttt ggggaggcta

20

<210> 19

<211> 20

<212> DNA

<213> artificial

<220>

<223> Primer

<400> 19

ggacgtccag tacgacctgt

20

<210> 20

<211> 20

<212> DNA

<213> artificial

<220>

<223> Primer

<400> 20

actttgagaa ccgctggaga

20

<210> 21

<211> 20

<212> DNA

<213> artificial

<220>

<223> Primer

<400> 21

gcttcttcaa gcggcaatac

20

<210> 22

<211> 20

<212> DNA

<213> artificial

<220>

<223> Primer

<400> 22

gtgcacacac ttgcacacag

20

B08674 - SQL.ST25

<210> 23
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> artificial

<220>
 <223> Primer

<400> 23
 ctgtattggg aaagggctca

20

<210> 24
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> artificial

<220>
 <223> Primer

<400> 24
 gggggtccaa agacttcaat

20

<210> 25
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> artificial

<220>
 <223> Primer

<400> 25
 ctacaccagc caaccagat

20

<210> 26
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> artificial

<220>
 <223> Primer

<400> 26
 ggtcgaagga cagagactgc

20

<210> 27
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> artificial

<220>
 <223> Primer

<400> 27
 gaggccaga tgggtcagaa

20

<210> 28
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> artificial

<220>
 <223> Primer

<400> 28

aaatgcaggg ggatctcttt	B08674 - SQL.ST25	20
<210> 29		
<211> 20		
<212> DNA		
<213> artificial		
<220>		
<223> Primer		
<400> 29		
caatggtgag cagaagcaaa		20
<210> 30		
<211> 20		
<212> DNA		
<213> artificial		
<220>		
<223> Primer		
<400> 30		
gaatcgatcc tcatggcact		20
<210> 31		
<211> 20		
<212> DNA		
<213> artificial		
<220>		
<223> Primer		
<400> 31		
catgtgagtc cctgtgatgg		20
<210> 32		
<211> 20		
<212> DNA		
<213> artificial		
<220>		
<223> Primer		
<400> 32		
gactgcagca aagacatcca		20
<210> 33		
<211> 20		
<212> DNA		
<213> artificial		
<220>		
<223> Primer		
<400> 33		
cttataacccc acccagctca		20
<210> 34		
<211> 20		
<212> DNA		
<213> artificial		
<220>		

B08674 - SQL.ST25

<223> Primer

<400> 34

acacagcatc caaaccaaca

20

<210> 35

<211> 20

<212> DNA

<213> artificial

<220>

<223> Primer

<400> 35

caggcaacac aatgagcact

20

<210> 36

<211> 20

<212> DNA

<213> artificial

<220>

<223> Primer

<400> 36

cgccactacc tagcacacaa

20

<210> 37

<211> 20

<212> DNA

<213> artificial

<220>

<223> Primer

<400> 37

ctggatggta cagccacctt

20

<210> 38

<211> 20

<212> DNA

<213> artificial

<220>

<223> Primer

<400> 38

ggcactttca ataccctgga

20

<210> 39

<211> 20

<212> DNA

<213> artificial

<220>

<223> Primer

<400> 39

tgcccaacta aaccagaac

20

<210> 40

<211> 20

<212> DNA

B08674 - SQL.ST25

<213> artificial

<220>

<223> Primer

<400> 40

gccagactgg tctcgaactc

20

<210> 41

<211> 20

<212> DNA

<213> artificial

<220>

<223> Primer

<400> 41

cagtgcctg caactggaga

20

<210> 42

<211> 20

<212> DNA

<213> artificial

<220>

<223> Primer

<400> 42

gattggccaa acacgaagt

20

<210> 43

<211> 20

<212> DNA

<213> artificial

<220>

<223> Primer

<400> 43

cagccctaca gcaaggactc

20

<210> 44

<211> 20

<212> DNA

<213> artificial

<220>

<223> Primer

<400> 44

tagaagcctg gagggtagca

20

<210> 45

<211> 20

<212> DNA

<213> artificial

<220>

<223> Primer

<400> 45

cggagggaat tcattgagaa

20

B08674 - SQL.ST25

<210> 46
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> artificial

<220>
 <223> Primer

<400> 46
 gcgtttccta agctccactg

20

<210> 47
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> artificial

<220>
 <223> Primer

<400> 47
 gctgtgaaac aggctgatga

20

<210> 48
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> artificial

<220>
 <223> Primer

<400> 48
 tggatcacaa agtccaccaa

20

<210> 49
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> artificial

<220>
 <223> Primer

<400> 49
 tgtgattctg gctgagaacg

20

<210> 50
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> artificial

<220>
 <223> Primer

<400> 50
 tgctcatagg tccactgctg

20

<210> 51
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> artificial

<220>
 <223> Primer

<400> 51

B08674 - SQL.ST25

ccagaagtgc ttcgatgtga 20

<210> 52
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> artificial

<220>
 <223> Primer

<400> 52
 tctgaaaagg ggcacatagg 20

<210> 53
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> artificial

<220>
 <223> Primer

<400> 53
 aattgtgggg atcaaggaca 20

<210> 54
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> artificial

<220>
 <223> Primer

<400> 54
 gtgccattct tgctctgtca 20

<210> 55
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> artificial

<220>
 <223> Primer

<400> 55
 agccaccaga aacgtacacc 20

<210> 56
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> artificial

<220>
 <223> Primer

<400> 56
 tttggggtaa ctctgccaac 20

<210> 57
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> artificial

<220>

B08674 - SQL.ST25

<223> Primer

<400> 57

ccgtaggagc cactatgagg

20

<210> 58

<211> 20

<212> DNA

<213> artificial

<220>

<223> Primer

<400> 58

ggctgcacct cttaaatgc

20

<210> 59

<211> 20

<212> DNA

<213> artificial

<220>

<223> Primer

<400> 59

ccagctacca tgtcccagat

20

<210> 60

<211> 20

<212> DNA

<213> artificial

<220>

<223> Primer

<400> 60

tatgccagct tccgactctt

20

<210> 61

<211> 20

<212> DNA

<213> artificial

<220>

<223> Primer

<400> 61

tgcacgacat cttcgagaac

20

<210> 62

<211> 20

<212> DNA

<213> artificial

<220>

<223> Primer

<400> 62

gttcttgccc agcagcatga

20

<210> 63

<211> 20

<212> DNA

B08674 - SQL.ST25

<213> artificial

<220>

<223> Primer

<400> 63

tgcagttcag cacctttgac

20

<210> 64

<211> 20

<212> DNA

<213> artificial

<220>

<223> Primer

<400> 64

tcccattccc acttcttcag

20

<210> 65

<211> 20

<212> DNA

<213> artificial

<220>

<223> Primer

<400> 65

tcatcgagaa cccattcctc

20

<210> 66

<211> 20

<212> DNA

<213> artificial

<220>

<223> Primer

<400> 66

aaatggctac tgggcttcct

20

<210> 67

<211> 20

<212> DNA

<213> artificial

<220>

<223> Primer

<400> 67

agttccagcc tccagactca

20

<210> 68

<211> 20

<212> DNA

<213> artificial

<220>

<223> Primer

<400> 68

tctccaaga ggcagtctgt

20

B08674 - SQL.ST25

<210> 69
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> artificial

<220>
 <223> Primer

<400> 69
 cctgcaactg gaagaaggag

20

<210> 70
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> artificial

<220>
 <223> Primer

<400> 70
 ctttcccttc cttttcttgg

20

<210> 71
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> artificial

<220>
 <223> Primer

<400> 71
 gggtgacttc atcccagaga

20

<210> 72
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> artificial

<220>
 <223> Primer

<400> 72
 ctgctgctgc cttctcttct

20

<210> 73
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> artificial

<220>
 <223> Primer

<400> 73
 tctcgacatt ccatcccttc

20

<210> 74
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> artificial

<220>
 <223> Primer

<400> 74

ctcagcttac aagccccaag B08674 - SQL.ST25 20

<210> 75
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> artificial

<220>
 <223> Primer

<400> 75
 ggctttgcag tttggagaag 20

<210> 76
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> artificial

<220>
 <223> Primer

<400> 76
 ctggggtcct ttctcatcaa 20

<210> 77
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> artificial

<220>
 <223> Primer

<400> 77
 caggagaagg tgctggagag 20

<210> 78
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> artificial

<220>
 <223> Primer

<400> 78
 tcttcaccct ttgggttgac 20

<210> 79
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> artificial

<220>
 <223> Primer

<400> 79
 gccttcttca agtggcagac 20

<210> 80
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> artificial

<220>

B08674 - SQL.ST25

<223> Primer

<400> 80

ccaaaggaac agctctcagg

20

<210> 81

<211> 20

<212> DNA

<213> artificial

<220>

<223> Primer

<400> 81

aaaatgttca agggcaaacg

20

<210> 82

<211> 20

<212> DNA

<213> artificial

<220>

<223> Primer

<400> 82

agatggccca cctttctttt

20

<210> 83

<211> 20

<212> DNA

<213> artificial

<220>

<223> Primer

<400> 83

gcgatcaggg gatagtgaag

20

<210> 84

<211> 20

<212> DNA

<213> artificial

<220>

<223> Primer

<400> 84

tggccaaaga agaatcatcc

20

<210> 85

<211> 20

<212> DNA

<213> artificial

<220>

<223> Primer

<400> 85

gggatttgat ccacaccatc

20

<210> 86

<211> 20

<212> DNA

B08674 - SQL.ST25

<213> artificial

<220>

<223> Primer

<400> 86

catctgacca tctgcgctaa

20

<210> 87

<211> 20

<212> DNA

<213> artificial

<220>

<223> Primer

<400> 87

agcagcttgg cttttcatgt

20

<210> 88

<211> 20

<212> DNA

<213> artificial

<220>

<223> Primer

<400> 88

aaggacctgg tgacatttcg

20

<210> 89

<211> 20

<212> DNA

<213> artificial

<220>

<223> Primer

<400> 89

agtgcagtgg tgtgatctcg

20

<210> 90

<211> 20

<212> DNA

<213> artificial

<220>

<223> Primer

<400> 90

ccatggctta cgcctgtaat

20



RAPPORT DE RECHERCHE PRÉLIMINAIRE PARTIEL

établi sur la base des dernières revendications
déposées avant le commencement de la recherche

N° d'enregistrement
national

FA 734564
FR 1000319

voir FEUILLE(S) SUPPLÉMENTAIRE(S)

DOCUMENTS CONSIDÉRÉS COMME PERTINENTS		Revendications concernées	Classement attribué à l'invention par l'INPI
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes		
X	YE J ET AL: "Alterations in cytokine regulation in aged epidermis: implications for permeability barrier homeostasis and inflammation. I. IL-1 gene family" EXPERIMENTAL DERMATOLOGY, BLACKWELL MUNSGAARD, COPENHAGEN; DK LNKD- DOI:10.1034/J.1600-0625.2002.110303.X, vol. 11, no. 3, 1 juin 2002 (2002-06-01), pages 209-216, XP002522056 ISSN: 0906-6705 [extrait le 2008-08-15] * le document en entier *	1-19	C12Q1/68 G01N33/68
A,D	MARIONNET CLAIRE ET AL: "Modulation of gene expression induced in human epidermis by environmental stress in vivo" JOURNAL OF INVESTIGATIVE DERMATOLOGY,, vol. 121, no. 6, 1 décembre 2003 (2003-12-01), pages 1447-1458, XP002522057 ISSN: 0022-202X [extrait le 2003-12-08] * le document en entier *	1-19	DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHÉS (IPC) C12Q G01N
A	CHOI EUNG-HO ET AL: "Stratum corneum acidification is impaired in moderately aged human and murine skin" JOURNAL OF INVESTIGATIVE DERMATOLOGY,, vol. 127, no. 12, 1 décembre 2007 (2007-12-01), pages 2847-2856, XP002522058 ISSN: 0022-202X [extrait le 2007-06-07] * le document en entier *	1-19	
-/--			
Date d'achèvement de la recherche		Examineur	
10 août 2010		Persson, Anna	
CATÉGORIE DES DOCUMENTS CITES X : particulièrement pertinent à lui seul Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie A : arrière-plan technologique O : divulgation non-écrite P : document intercalaire T : théorie ou principe à la base de l'invention E : document de brevet bénéficiant d'une date antérieure à la date de dépôt et qui n'a été publié qu'à cette date de dépôt ou qu'à une date postérieure. D : cité dans la demande L : cité pour d'autres raisons & : membre de la même famille, document correspondant			

3

EPO FORM 1503 12.99 (P04C35)



RAPPORT DE RECHERCHE PRÉLIMINAIRE PARTIEL

établi sur la base des dernières revendications
déposées avant le commencement de la recherche

N° d'enregistrement
national

FA 734564
FR 1000319

voir FEUILLE(S) SUPPLÉMENTAIRE(S)

DOCUMENTS CONSIDÉRÉS COMME PERTINENTS		Revendications concernées	Classement attribué à l'invention par l'INPI
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes		
A	BARLAND CHANTEL O ET AL: "Imiquimod-induced interleukin-1.alpha. stimulation improves barrier homeostasis in aged murine epidermis" JOURNAL OF INVESTIGATIVE DERMATOLOGY,, vol. 122, no. 2, 1 février 2004 (2004-02-01), pages 330-336, XP002522059 ISSN: 0022-202X [extrait le 2004-02-12] * le document en entier *	1-19	DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHÉS (IPC)
A,D	GHADIALLY R ET AL: "The aged epidermal permeability barrier. Structural, functional, and lipid biochemical abnormalities in humans and a senescent murine model" JOURNAL OF CLINICAL INVESTIGATION, AMERICAN SOCIETY FOR CLINICAL INVESTIGATION, US LNKD- DOI:10.1172/JCI117919, vol. 95, no. 5, 1 mai 1995 (1995-05-01), pages 2281-2290, XP002522060 ISSN: 0021-9738 * le document en entier *	1-19	
A	ELIAS PETER M ET AL: "The aged epidermal permeability barrier: basis for functional abnormalities" CLINICS IN GERIATRIC MEDICINE, W.B. SOUNDERS CO., LONDON, GB LNKD- DOI:10.1016/S0749-0690(03)00037-5, vol. 18, no. 1, 1 février 2002 (2002-02-01), pages 103-120, XP009114232 ISSN: 0749-0690 * le document en entier * ----- -/-	1-19	
Date d'achèvement de la recherche		Examineur	
10 août 2010		Persson, Anna	
CATÉGORIE DES DOCUMENTS CITES X : particulièrement pertinent à lui seul Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie A : arrière-plan technologique O : divulgation non-écrite P : document intercalaire T : théorie ou principe à la base de l'invention E : document de brevet bénéficiant d'une date antérieure à la date de dépôt et qui n'a été publié qu'à cette date de dépôt ou qu'à une date postérieure. D : cité dans la demande L : cité pour d'autres raisons & : membre de la même famille, document correspondant			



RAPPORT DE RECHERCHE PRÉLIMINAIRE PARTIEL

établi sur la base des dernières revendications
déposées avant le commencement de la recherche

N° d'enregistrement
national

FA 734564
FR 1000319

voir FEUILLE(S) SUPPLÉMENTAIRE(S)

DOCUMENTS CONSIDÉRÉS COMME PERTINENTS		Revendications concernées	Classement attribué à l'invention par l'INPI
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes		
A	WO 02/053773 A2 (HENKEL KGAA [DE]; PETERSOHN DIRK [DE]; CONRADT MARCUS [DE]; HOFMANN KA) 11 juillet 2002 (2002-07-11) * tableau 4; composé 757 * * tableau 9; composé 63. 142 * * revendications 2-3, 18, 23, 27, 29 *	1-19	DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHÉS (IPC)
A	WO 02/053774 A2 (HENKEL KGAA [DE]; PETERSOHN DIRK [DE]; CONRADT MARCUS [DE]; HOFMANN KA) 11 juillet 2002 (2002-07-11) * tableau 6; composé 6127 * * revendications 9-10, 18 *	1-19	
A	LUCAS NEALI ET AL: "The role of the disintegrin metalloproteinase ADAM15 in prostate cancer progression." JOURNAL OF CELLULAR BIOCHEMISTRY 15 APR 2009 LNKD- PUBMED:19229865, vol. 106, no. 6, 15 avril 2009 (2009-04-15), pages 967-974, XP002595807 ISSN: 1097-4644 * le document en entier *	1-19	
A	CURTO E V ET AL: "Biomarkers of human skin cells identified using DermArray DNA arrays and new bioinformatics methods" BIOCHEMICAL AND BIOPHYSICAL RESEARCH COMMUNICATIONS, ACADEMIC PRESS INC. ORLANDO, FL, US LNKD- DOI:10.1006/BBRC.2002.6542, vol. 291, no. 4, 8 mars 2002 (2002-03-08), pages 1052-1064, XP002265763 ISSN: 0006-291X * le document en entier *	1-19	
-/--			
Date d'achèvement de la recherche		Examineur	
10 août 2010		Persson, Anna	
CATÉGORIE DES DOCUMENTS CITES X : particulièrement pertinent à lui seul Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie A : arrière-plan technologique O : divulgation non-écrite P : document intercalaire T : théorie ou principe à la base de l'invention E : document de brevet bénéficiant d'une date antérieure à la date de dépôt et qui n'a été publié qu'à cette date de dépôt ou qu'à une date postérieure. D : cité dans la demande L : cité pour d'autres raisons & : membre de la même famille, document correspondant			

3

EPO FORM 1503 12.99 (P04C35)



**RAPPORT DE RECHERCHE
PRÉLIMINAIRE PARTIEL**
établi sur la base des dernières revendications
déposées avant le commencement de la recherche
voir FEUILLE(S) SUPPLÉMENTAIRE(S)

N° d'enregistrement
national

FA 734564
FR 1000319

DOCUMENTS CONSIDÉRÉS COMME PERTINENTS		Revendications concernées	Classement attribué à l'invention par l'INPI
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes		
A	WO 2005/100603 A2 (DERMTECH INTERNAT [US]; BENSON NICHOLAS R [US]) 27 octobre 2005 (2005-10-27) * alinéa [0006] - alinéa [0014]; revendications 115-118 * -----	1-19	DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHÉS (IPC)
Date d'achèvement de la recherche		Examineur	
10 août 2010		Persson, Anna	
CATÉGORIE DES DOCUMENTS CITES X : particulièrement pertinent à lui seul Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie A : arrière-plan technologique O : divulgation non-écrite P : document intercalaire T : théorie ou principe à la base de l'invention E : document de brevet bénéficiant d'une date antérieure à la date de dépôt et qui n'a été publié qu'à cette date de dépôt ou qu'à une date postérieure. D : cité dans la demande L : cité pour d'autres raisons & : membre de la même famille, document correspondant			

 3
EPO FORM 1503 12.99 (P04C35)

**ANNEXE AU RAPPORT DE RECHERCHE PRÉLIMINAIRE
RELATIF A LA DEMANDE DE BREVET FRANÇAIS NO. FR 1000319 FA 734564**

La présente annexe indique les membres de la famille de brevets relatifs aux documents brevets cités dans le rapport de recherche préliminaire visé ci-dessus.

Les dits membres sont contenus au fichier informatique de l'Office européen des brevets à la date du **10-08-2010**

Les renseignements fournis sont donnés à titre indicatif et n'engagent pas la responsabilité de l'Office européen des brevets, ni de l'Administration française

Document brevet cité au rapport de recherche		Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
WO 02053773	A2	11-07-2002	DE 10100121 A1	01-08-2002
			EP 1356106 A2	29-10-2003
			US 2004142335 A1	22-07-2004

WO 02053774	A2	11-07-2002	AU 2001297856 A1	16-07-2002
			DE 10100127 A1	02-10-2002
			EP 1348032 A2	01-10-2003
			US 2007020623 A1	25-01-2007

WO 2005100603	A2	27-10-2005	AU 2005233547 A1	27-10-2005
			CA 2560444 A1	27-10-2005
			EP 1735467 A2	27-12-2006
			JP 2007531529 T	08-11-2007
			US 2007202540 A1	30-08-2007
			US 2005221334 A1	06-10-2005

ABSENCE D'UNITÉ D'INVENTION
FEUILLE SUPPLÉMENTAIRE B

Numéro de la demande

FA 734564
 FR 1000319

La division de la recherche estime que la présente demande de brevet ne satisfait pas à l'exigence relative à l'unité d'invention et concerne plusieurs inventions ou pluralités d'inventions, à savoir :

1. revendications: 1-19(en partie)

Méthode d'évaluation de l'homéostasie épidermique de la peau comprenant la détermination du caractère significativement modulé ou non du niveau d'expression d'au moins un gène choisi parmi les gènes de la revendication 1, où ledit gène est ADAM15. Méthodes d'évaluation et de criblage ainsi que utilisation et kit s'y rapportant.

2-22. revendications: 1-19(en partie)

Comme pour l'Invention 1, mais où ledit gène est chacun des gènes ARL4D, CAP1, CDH1, GLG1, GOLGA4, H2AFB2, ICAM1, IFNAR2, IL3RA, ITGAM, KHDRBS1, LMNA, MMP7, PLCL1, PTGES, RNPS1, SAP18, SIL, SLC31A1, TUBB4 et XRCC1, respectivement.

23. revendications: 1-19(en partie)

Comme pour l'Invention 1, mais où ledit gène est choisi parmi les gènes ANXA6, ARPC4, ATP1A1, CDC37, CLEL2B, COX7B, COX7C, CYC1, DAPK3, FGA, HSD17B10, ITPKC, MDK, NGB, POLR2G, PSMA5, PSME2, SF3B2, SNRPA1, SSBP1, TLE4, TSPAN3 et UQCRCQ.

La première invention a été recherchée.

La présente demande ne satisfait pas aux dispositions de l'article L.612-4 du CPI car elle concerne une pluralité d'inventions qui ne sont pas liées entres elles en formant un seul concept inventif général.

La présente demande concerne des méthodes, kits et utilisations relatifs aux 45 gènes dont le caractère significativement modulé ou non du niveau d'expression au sein de l'épiderme en réponse à une agression physique ou chimique du stratum corneum se distingue entre des individus jeunes et âgés.

Il y a deux groupes de gènes; le premier avec 22 gènes dont l'expression croît chez le sujet jeune alors qu'elle ne varie pas chez le sujet âgé et le deuxième avec 23 gènes dont l'expression croît chez le sujet âgé alors qu'elle ne varie pas chez le sujet jeune.

Les conditions d'unité d'invention sont remplies lorsqu'il existe une relation technique parmi les inventions, portant sur un ou plusieurs éléments techniques particuliers identiques ou correspondants. L'expression "éléments techniques particuliers" s'entend des éléments techniques qui déterminent une contribution de chacune des inventions revendiquées, considérée comme un tout, par rapport à l'état de la technique.

ABSENCE D'UNITÉ D'INVENTION
FEUILLE SUPPLÉMENTAIRE B

Numéro de la demande

FA 734564
FR 1000319

La division de la recherche estime que la présente demande de brevet ne satisfait pas à l'exigence relative à l'unité d'invention et concerne plusieurs inventions ou pluralités d'inventions, à savoir :

L'état de la technique est représenté par le document D1 (Ye et al., 2002), qui divulgue que l'expression du gène IL-1ra au sein de l'épiderme croît chez le sujet jeune après une agression physique alors qu'elle ne varie pas chez le sujet âgé (D1: Figure 4 et page 214, colonne gauche).

A la lumière de l'art antérieur, le concept général de la présente demande, c.-à-d., un gène dont le caractère significativement modulé ou non du niveau d'expression au sein de l'épiderme en réponse à une agression physique ou chimique du stratum corneum se distingue entre des individus jeunes et âgés, n'est pas nouveau. Il s'en suit que les différentes inventions mentionnées dans les revendications 1 à 19 ne sont pas liées entre elles par un élément technique particulier qui définit une contribution vis-à-vis de l'art antérieur. Comme il n'y a pas de concept inventif général qui unit les inventions, la présente demande ne remplit pas les conditions d'unité d'invention.

Le problème technique que se propose de résoudre la présente demande à la lumière de l'art antérieur pourrait être considéré comme étant l'identification de gènes supplémentaires dont le caractère significativement modulé ou non du niveau d'expression au sein de l'épiderme en réponse à une agression physique ou chimique se distingue entre des individus jeunes et âgés. Chacune des différentes inventions ci-dessus est considérée comme représentant une solution indépendante.

Le concept général qui à priori unit les 23 gènes du deuxième groupe de gènes est un gène dont l'expression croît chez le sujet âgé alors qu'elle ne varie pas chez le sujet jeune. L'attention du Demandeur est attirée sur le fait que le concept général de ce deuxième groupe pourrait s'avérer ne pas être nouveau après une recherche de l'état de la technique relative à ce groupe. Par ailleurs, il semble d'ores et déjà que ce concept général n'est pas inventif à la lumière de D1.

Les inventions sont numérotées selon l'ordre de gènes dans revendication 1.