



Denis Hochstrasser

# Protéomique et biologie clinique

Puissant outil d'analyse de l'expression et de la fonction des protéines, la protéomique trouve aujourd'hui de nombreuses applications dans le vaste ensemble des sciences du vivant. Si son application en biologie clinique n'est pas encore envisageable dans le cadre de la routine, cette discipline offre toutefois d'intéressantes perspectives notamment dans le domaine de l'identification de nouveaux biomarqueurs. Médecin interniste et chimiste clinique le Professeur Denis Hochstrasser\* dirige le Département de Pathologie clinique et le Laboratoire central de chimie clinique et d'examen biologiques des Hôpitaux Universitaires de Genève. Egalement co-fondateur de l'Institut Suisse de bioinformatique et des sociétés genevoises GeneBio et GeneProt, il fait part à Spectra Biologie de quelques réflexions sur l'intérêt et les évolutions potentielles de la protéomique en biologie clinique.

**Spectra Biologie - Que peut apporter la protéomique au domaine de la biologie clinique et quelles sont ses perspectives de développement ?**

**Denis Hochstrasser** - L'intérêt et les perspectives de développement de la protéomique dans le domaine de la biologie clinique relèvent selon moi de trois axes. La protéomique peut apporter une contribution essentielle à la découverte de nouveaux biomarqueurs uniques et simples tels la troponine ou le BNP. Nous manquons encore de marqueurs pour certains organes, la protéomique peut aider à améliorer cette situation. L'identification récente de nouveaux biomarqueurs pour les accidents vasculaires cérébraux, un domaine dans lequel rien n'existait auparavant, constitue un bon exemple de ce potentiel. Le deuxième axe de développement est représenté par la mise au point de panels de ligands fixés sur des puces. Cette application peut présenter un intérêt pour la biologie clinique si les panels ne sont pas trop importants, la multiplication des tests entraînant une augmentation du nombre de faux positifs. Et, de fait, l'utilisation de puces à protéines portant de très nombreux ligands devrait rester cantonnée au domaine de la recherche. Le troisième axe correspond au développement de tests reposant non pas sur une identification précise mais plutôt sur l'analyse d'un spectre. Un échantillon est criblé et le spectre obtenu est comparé au contenu d'une base de données afin d'aboutir à un diagnostic. Ces types de tests, aujourd'hui très controversés, sont aux Etats-Unis au centre de nombreux enjeux commerciaux et l'on peut sentir une certaine pression s'exerçant au niveau de la FDA pour leur approbation. Il n'est pas évident que ces tests présentent à l'heure actuelle la robustesse et la sensibilité nécessaires à leur utilisation en biologie clinique. De plus, si certains pics de ces spectres font l'objet d'une identification et donnent naissance à de véritables biomarqueurs, les tests immunologiques qui en découleront se révéleront économiquement

plus compétitifs. Quoi qu'il en soit cette approche se révèle intéressante en recherche, par exemple, le Dr Markus Stoeckli de la société Novartis « scan-ent » des tissus par spectrométrie de masse et fait de l'imagerie, les images des tissus sont « colorées » en fonction de la nature des molécules d'intérêt. Ce type d'application pourrait donner d'intéressants développements dans le domaine de la pathologie clinique.

**S.B. - La méthodologie « multi-étapes » et la chaîne instrumentale de la protéomique qualitative sont-elles aujourd'hui véritablement compatibles avec les exigences de robustesse et de fiabilité qui caractérisent la biologie clinique ? Quels développements instrumentaux pourraient à terme permettre une véritable intégration des outils de la protéomique dans les laboratoires de biologie clinique ?**

**D.H.** - L'analyse des protéomes est un exercice extrêmement complexe et l'on analyse aujourd'hui, et pour encore très longtemps, que des petites parties des protéomes, des sous-protéomes. La méthodologie doit donc être nécessairement multi-étapes, on ne peut pas en une seule étape étudier l'intégralité d'un protéome. L'extraction d'une partie d'un protéome est un premier passage obligé qui ne va pas changer mais qui va évoluer. Ensuite on aura toujours, selon moi, une étape d'extraction multidimensionnelle laquelle sera probablement toujours de type chromatographique et/ou électrophorétique combinée. On peut difficilement imaginer la réalisation en routine de l'électrophorèse bidimensionnelle, cette technique étant trop compliquée. Pour être très performante dans le futur cette séparation multidimensionnelle devrait contenir une étape de focalisation isoélectrique. L'autre point essentiel est la spectrométrie de masse, c'est le cœur de la protéomique. Le spectromètre de masse est un détecteur. On peut même imaginer que la spectrométrie de masse soit dans le futur utilisée pour la lecture d'une immunoanalyse plutôt que la fluorescence ou la chimilumines-

\*Hôpitaux Universitaires de Genève - Laboratoire central de chimie clinique et d'examen biologiques  
Rue Micheli-du-Crest 24 - 1211 Genève 14 - Suisse - E-Mail : denis.hochstrasser@sim.hcuge.ch

cence. Cette technique extrêmement robuste aurait l'avantage de permettre un séquençage en quelques millisecondes et donc de permettre une identification sûre de l'antigène impliqué dans la réaction. Enfin, l'étape d'analyse des résultats est critique, la bioinformatique, encore aujourd'hui balbutiante dans certains domaines, est essentielle face à la complexité et à la masse des informations produites. Au niveau méthodologique, si l'on considère, par exemple, l'approche « shotgun » introduite par John Yates il y a une dizaine d'années, elle permet de contourner la grande variabilité physico-chimique des protéines en se fondant sur la digestion de celles-ci sous forme de peptides à partir desquels l'identification des protéines peut-être réalisée de façon relativement aisée. Je pense que ce type d'approche est valable pour l'étude des bactéries, peut-être des levures, mais dès que l'organisme devient trop complexe, l'analyse de tous les fragments peptidiques devient très difficile. Nous avons récemment commencé à développer une approche reprenant l'idée du « shotgun » mais en rajoutant une étape de focalisation isoélectrique dans des gradients de pH immobilisés. Cette nouvelle approche permettra peut-être d'aboutir à une méthode robuste et aisée à réaliser qui couplée à la puissance de la spectrométrie de masse et à la bioinformatique pourrait permettre de faire de la reconnaissance de biopsies. Il me semble donc que la méthodologie multi-étapes est indispensable et que la chaîne instrumentale de la protéomique ne pourra pas être que qualitative mais devra à tout prix être quantitative. Je pense que cette méthodologie va pouvoir devenir robuste et fiable, la question étant de savoir à quel coût et si un marché pourra émerger. La société CIPHERGEN (Fremont, États-Unis) fait en quelque sorte figure de pionnier, son système repose sur l'adsorption des protéines d'un mélange sur une puce à surface chromatographique associée à une identification par spectrométrie de masse selon la technologie SELDI. Ce système présentait toutefois à l'origine des problèmes de reproductibilité surtout au niveau des puces. L'approche est cependant intéressante et sa sensibilité devra encore être accrue pour qu'elle ait un avenir concret dans le domaine clinique. Quant aux développements instrumentaux, on peut envisager la miniaturisation de l'extraction et de la

séparation multidimensionnelle, associée à l'automatisation de la spectrométrie de masse. En aval, le développement d'outils bioinformatiques puissants est essentiel pour réaliser des comparaisons avec le contenu de bases de données et vérifier ces paramètres essentiels à la biologie clinique que constituent : la précision, l'exactitude, la spécificité et la sensibilité des résultats

### **S.B. - Comment les biologistes pourront-ils véritablement s'approprier la protéomique ?**

**D. H.** - Je vous réponds en tant que biologiste clinique et médecin interniste, je suis convaincu, au risque d'apparaître quelque peu provocateur, que la protéomique est une sous discipline de la biologie (chimie) clinique. Je pense que l'avenir de la protéomique est véritablement dans les mains des chimistes cliniques et qu'il est aujourd'hui important qu'ils s'approprient cette discipline. C'est une opportunité à ne pas manquer. Certains d'entre eux notamment, dans le domaine hospitalo-universitaire ou dans les grands laboratoires privés, utilisent déjà des outils comme la spectrométrie de masse et ses couplages aux méthodes chromatographiques notamment pour des applications comme le suivi thérapeutique. De plus, la spectrométrie de masse va se démocratiser, se vulgariser, le prix des instruments diminue et les logiciels qui faisaient jusqu'à récemment défaut pour faciliter l'analyse des données sont en train de se développer comme le logiciel d'identification des protéines par spectrométrie de masse de GeneBio « Phénix ». La vulgarisation de la discipline devrait notamment reposer sur deux sources, d'une part, la formation, une formation éclectique dans laquelle la protéomique et la génomique devraient être intégrées, et d'autre part, du développement par les industriels d'outils facilement utilisables. Certaines sociétés de biotechnologie et d'instrumentation tentent déjà de développer des outils présentant ces caractéristiques (ex : [www.genebio.com](http://www.genebio.com)).

Une autre voie de vulgarisation très importante s'appuie sur les conférences et les publications. Les conférences de chimie clinique accueillent maintenant presque systématiquement des orateurs invités à venir s'exprimer sur le thème de la protéomique, j'en veux pour preuves les conférences organisées par

l'AACC (American Association for Clinical Chemistry), l'IFCC (International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine) ou encore la FEBS (Federation of European Biochemical Societies). Au niveau de la littérature, des publications relatives à la protéomique sont également désormais présentes dans presque chaque numéro de revues américaine ou européenne comme *Clinical Chemistry* ou *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*.

### **S.B. - A quel horizon pourrait-on s'attendre à voir la protéomique effectuer une percée dans le domaine de la biologie clinique ?**

**D. H.** - Si l'on met de côté les applications déjà très concrètes liées à l'identification de nouveaux biomarqueurs, la protéomique ne pourra pas faire une percée tangible avant qu'un « test protéomique » se révèle constituer le seul test indispensable à la détermination d'une maladie et/ou au choix d'un traitement. L'arrivée d'un tel test constituerait un véritable tournant car tant qu'il est possible de faire autrement et moins cher il n'y a aucune probabilité pour que la protéomique devienne une technique de routine en biologie clinique. Pour ce qui est d'éventuelles échéances, mon expérience du domaine me conduit naturellement à rester prudent, toutefois, on peut penser que dans les 5 ans à venir il est très probable qu'apparaissent des applications découlant directement ou indirectement de la protéomique. J'entends par « indirectement » l'apparition de nouveaux biomarqueurs, de panels, de bandelettes permettant la réalisation de différents tests. Une société comme Biosite aux États-Unis est notamment très active dans ce domaine. On peut également penser à des arrays de protéines pour l'analyse de biopsies. Une chose est sûre : de nombreux projets d'applications sont à l'étude. On doit toutefois garder à l'esprit que de façon générale la difficulté majeure pour qu'un nouveau test, même un biomarqueur diagnostique, soit accepté réside dans la nécessité de quasiment mettre en place une étude clinique comme pour les nouveaux médicaments. Or, cette étape se révèle extrêmement coûteuse et la marge bénéficiaire de l'industrie diagnostique est beaucoup moins importante que celle de l'industrie pharmaceutique.