



Jérôme HINFRAY
Rédacteur en Chef

Molécul(ère)

Le génie frappe bien souvent sans crier gare. Si l'inspiration est venue à certains dans un verger du Lincolnshire (Isaac Newton) ou dans un rêve peuplé d'atomes et d'un Ouroboros (Friedrich August Kekulé), Kary Mullis, l'inventeur de la polymerase chain reaction (PCR), eut lui son coup de génie alors qu'il circulait sur une route de Californie du Nord un soir d'avril 1983. Chemin faisant vers une rustique villégiature, le chercheur réfléchissait à la mise au point d'une technique de mini séquençage dérivée de la méthode de Sanger... et découvrit finalement le principe de l'amplification sélective de l'ADN (1). Cette invention, qui lui valu dix ans plus tard le prix Nobel de chimie, allait révolutionner la biologie moléculaire et contribuer de façon majeure au développement des sciences génomiques. Reposant sur un principe simple en trois étapes (dénaturation, hybridation, extension), la PCR s'est imposée comme un outil incontournable dans les laboratoires de recherche. Toutefois, malgré son potentiel évident pour le diagnostic médical, les difficultés associées à la conception, à la mise en œuvre et également à l'interprétation de tests moléculaires basés sur la PCR, ont fait que cette technique est restée longtemps éloignée des paillasse des laboratoires ne présentant pas un degré de spécialisation suffisant. La donne a toutefois changé avec l'avènement de la PCR en temps réel à l'orée des années 2000. Fondée sur le principe de la PCR classique, cette technique permet, grâce à l'emploi d'un marqueur fluorescent, de suivre en temps réel la quantité d'ADN amplifié. Elle présente comparativement à la technique classique de nombreux avantages comme entre autres, la réalisation de tests qualitatifs ou quantitatifs et, point essentiel, une forte capacité à être automatisée. Parée de ces atouts, la PCR en temps réel s'est imposée aux yeux des industriels du diagnostic *in vitro* comme une technologie d'intérêt susceptible d'être exploitée sur des systèmes polyvalents présentant

un accès et une maintenance relativement simples. Ainsi, les machines dédiées assurent la détection des produits d'amplification pendant la réaction d'amplification au sein d'un système clos. Résultat, les étapes de traitement manuel post-PCR, longues et fastidieuses, sont passées à la trappe et les risques de contamination se trouvent, en théorie, réduits de façon drastique. Aussi, depuis quelques années et malgré la pression importante des questions liées à la propriété intellectuelle, le marché de la PCR temps réel s'est fortement développé avec des appareils très intégrés et une offre de tests, présentant de plus en plus souvent le marquage CE/IVD. Aujourd'hui, l'ensemble de ces éléments contribue à véritablement faire basculer le diagnostic moléculaire dans le champ du diagnostic clinique. Une évolution attendue alors que le diagnostic moléculaire est annoncé par nombre d'industriels comme le principal fer de lance de leur développement. La croissance affichée par ce marché, supérieure à celle du diagnostic *in vitro* dans son ensemble (2), a de quoi susciter les convoitises... Quoi qu'il en soit, il est trop réducteur d'assimiler le développement du diagnostic moléculaire à l'aboutissement de choix industriels. Si le diagnostic moléculaire ne saurait en aucun cas être considéré comme une panacée, il peut, dans un contexte médico-économique approprié, apporter de nouvelles solutions aux laboratoires de biologie médicale. Les innovations sont extrêmement nombreuses et l'effort d'intégration et de simplification des tests mené par les industriels offre à la biologie de nouveaux outils. A titre d'exemple, les puces à ADN, dont le développement a d'ailleurs certainement pâti de la simplicité offerte par la PCR en temps réel, commencent à trouver des applications très concrètes sous la forme tests multiplex, et cela à des coûts enfin abordables. A n'en pas douter les outils du diagnostic moléculaire deviennent désormais accessibles, il revient maintenant au biologiste de se les approprier et d'en maîtriser la plus juste utilisation.

(1) SAIKI RK, SCHARF S, FALOONA F, MULLIS KB, HORN GT, ERLICH HA, ARNHEIM N., Enzymatic amplification of beta-globin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia. *Science*, 1985, 230(4732), 1350-1354.

(2) La croissance du marché du diagnostic *in vitro* aux Etats-Unis est estimé à 6,4 % par an sur la période 2003-2010, celle du diagnostic moléculaire à 15,7 % (source : note de synthèse MINEFI-DGTPE (2005))