

Mieux soigné grâce aux biopuces

À NAMUR, UN LABO DE 1 CM² EFFECTUE
8.000 ANALYSES EN DEUX HEURES



Les connexions entre biologie, électronique et informatique se multiplient. Mais cette nouvelle Trinité technoscientifique n'est pas destinée à créer l'homme bionique rêvé par la science-fiction. L'enjeu est au contraire d'améliorer le sort de l'humain normal en multipliant, accélérant et affinant fortement les capacités de diagnostic et de traitement d'un grand nombre de maladies. Et dans ce domaine, les travaux des équipes de chercheurs wallons sont parmi les plus avancés au monde.

Patrick Bartholomé

Mieux soigné grâce aux biopuces

Samedi soir au service des urgences du CHPLT (Centre Hospitalier Pelzer-La Tourelle) de Verviers. La sirène d'une ambulance se rapproche et dans l'équipe médicale chacun ressent cette petite tension au creux de l'estomac, comme à chaque fois qu'un véhicule d'urgence s'engouffre dans le sas. Cette fois, c'est un accidenté de la route en état de choc que les ambulanciers déchargent avec précaution. Blessé aux membres, il souffre aussi beaucoup du thorax, à tel point que la douleur l'empêche d'inspirer et l'asphyxie peu à peu. La radiographie confirmera les soupçons du médecin : fractures multiples des côtes. Il décide alors de plonger sans tarder le blessé dans un coma artificiel pour soulager ses souffrances et lui permettre ainsi de respirer. Les infirmières introduisent dans la bouche du patient, désormais inconscient, un tuyau qui s'enfonce jusqu'à ses bronches et y injecte directement l'oxygène dont il a un besoin urgent. À présent, plusieurs machines vont assister ses fonctions vitales et des injections de médicaments vont rétablir l'équilibre de ses systèmes biochimiques. Le patient est dit « stabilisé ». La longue route vers la guérison complète lui est ouverte. Sauf si, en cours de route, une bactérie en décide autrement...

:: Des complications liées aux soins

Car plusieurs jours après son admission, l'état général de l'accidenté s'est dégradé. Il a de la fièvre. On diagnostique une infection pulmonaire. « *C'est un problème très fréquent chez les patients hospitalisés en soins intensifs*, explique Sandrine D., infirmière urgentiste au CHPLT. *À cause de leur position couchée, de leur inconscience et de la présence du tuyau dans la trachée, ils inhalent peu à peu leur salive, qui entraîne dans les bronches des bactéries présentes dans la bouche du patient et dans l'air de l'hôpital. Elles provoquent une infection pulmonaire particulièrement dangereuse. D'abord parce qu'elle est difficile à détecter par les médecins sur un patient inconscient, ensuite parce que le patient est affaibli et que les bactéries impliquées sont souvent résistantes aux antibiotiques.* »

Le rescapé de la route est donc à nouveau en danger car les complications fatales ne sont pas rares. Il faut de toute urgence lui administrer un antibiotique efficace.

La technique d'analyse actuelle, l'antibiogramme, ne permet pas d'obtenir en moins de 24 à 48 heures une réponse claire à cette simple question : « Quel est l'antibiotique le plus actif sur la bactérie présente chez ce malade ? » Mais 24 heures c'est beaucoup quand chaque heure compte, et pour trop de patients la réponse arrive trop tard... Du moins à l'heure actuelle, car les choses pourraient changer dans un proche avenir, grâce une application de la technologie des « biopuces » développée à Namur dans les laboratoires d'EAT (Eppendorf Array Technology).

:: Une histoire de spirale

Pour bien comprendre le principe des biopuces, et réaliser tout le potentiel qu'elles représentent, il faut faire un voyage dans le temps et remonter au début des années 1950. C'est l'époque où trois jeunes chercheurs du Cavendish Laboratory de Cambridge, le biologiste américain Jim Watson (24 ans), le physicien britannique Francis Crick et le physicien

néo-zélandais Maurice Wilkins (36 ans tous deux) s'arrachent les cheveux pour comprendre quelle forme pourrait bien avoir cette molécule d'ADN, qu'on a découverte dans les années 1920. On sait depuis 1944 qu'elle est le support de l'hérédité, mais personne ne peut expliquer comment c'est possible. En janvier 1953, les trois scientifiques examinent des clichés d'une molécule d'ADN réalisés aux rayons X par une collègue chimiste, Rosalind Franklin. En partant de ses données, après avoir bricolé toutes sortes de maquettes en carton et osé s'opposer aux concepts scientifiques de l'époque sur la forme des molécules, ils réussissent à établir la forme exacte de l'ADN et la manière dont ses composants s'organisent. Ils finissent par comprendre que la forme qu'ils cherchent est celle d'une double spirale enchevêtrée. Une structure simple finalement, car selon le principe du « rasoir d'Ockham », la nature ne complique pas les choses inutilement.

Les jeunes chercheurs font en même temps une découverte majeure, publiée dans *Nature* en avril 1953 : ils montrent comment cette structure de double spirale permet à l'ADN de se recopier aussi simplement et exactement qu'un fichier copié d'un disque dur à une clef USB, et enfin ils expliquent pourquoi cette molécule fonctionne comme un



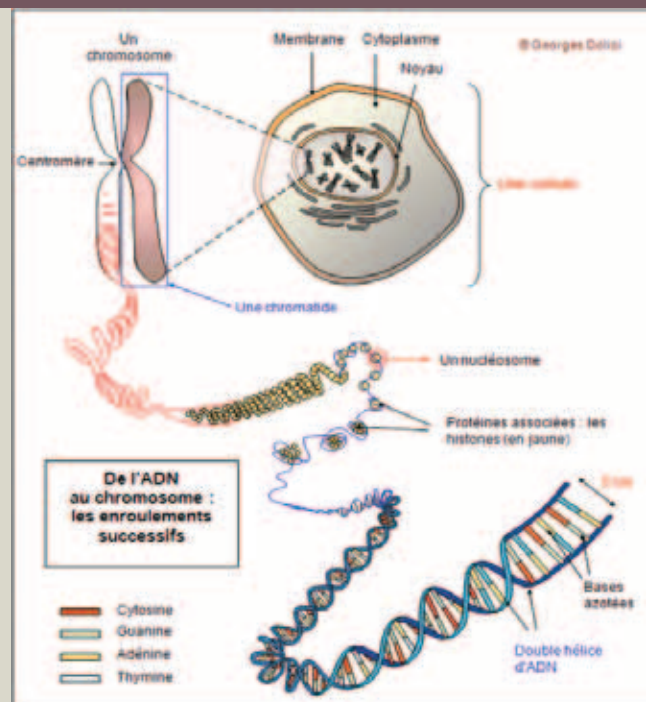
« C'était simple ; on pouvait exposer cette idée à n'importe qui – il n'était pas nécessaire d'être un génie pour comprendre le mode de réplication du matériel génétique », écrira Jim Watson (à dr.) en 1968 dans son livre « La double hélice » (photo © A. Barrington Brown/ Photo Researchers Inc).

« fichier chimique » porteur d'informations : le code génétique (voir encadré).

Pour cette découverte, Watson, Crick et Wilkins recevront en 1962 le prix Nobel de physiologie-médecine. L'histoire a longtemps oublié leur collègue Rosalind Franklin, morte en 1958 d'un cancer, à l'âge de 37 ans. Pourtant ses travaux ont été décisifs pour cette découverte. Depuis les années 1980, un nombre croissant d'écrits et de démarches de mémoire lui rendent justice.

CE CODE, C'EST TOUT NOUS !

Quiconque a gardé quelques notions de biologie reçues à l'école se souvient que le noyau de chacune de nos cellules contient des chromosomes. Et qu'ils sont porteurs de notre hérédité, c'est-à-dire de notre identité générale en tant qu'espèce et de notre identité particulière en tant qu'individu. Chaque individu est unique et possède donc un ADN différent. Tout y est consigné : notre espèce, notre sexe, et tous les détails personnels, depuis la couleur de notre iris jusqu'à la forme de nos empreintes digitales ou notre prédisposition à certaines maladies. Ces chromosomes sont constitués d'ADN (acide désoxyribonucléique), une sorte de long, très long code-barres chimique composé de 4 substances alignées en millions d'exemplaires dans un ordre bien précis. Ces substances sont les « bases azotées », symbolisées par A, C, T et G. L'ordre de leur succession a un sens pour des enzymes capables de « lire » ce code-barres chimique et d'exécuter les instructions qu'il contient. Chaque fragment de cette chaîne forme un « gène », c'est-à-dire un élément du « code » d'un être vivant. La totalité du message ainsi décodé, c'est le « plan de montage » et le « manuel d'utilisation » complet d'un être vivant, quel qu'il soit.



:: L'ADN : un outil d'enquête tout terrain

Les séries télé ont popularisé l'analyse de l'ADN comme moyen infaillible pour les enquêteurs d'identifier un suspect. Mais concrètement comment peut-on « lire » un ADN recueilli sur une scène de crime dans une trace de salive, de sperme, de sang, des cheveux, un fragment d'ongle ou de peau ? Tout simplement en appliquant la découverte de Crick et Watson. Il faut pour cela imiter la façon dont les organites spécialisés de nos cellules procèdent pour exécuter les instructions encodées dans l'ADN : ouvrir en deux sur sa longueur, comme une fermeture-éclair, un gène, c'est-à-dire une courte section de la double spirale. On dispose ainsi d'un demi-brin d'un fragment d'ADN. Il représente une sorte de clef, laquelle

n'est capable d'ouvrir qu'une seule serrure parmi des millions. Car les quatre bases azotées (voir fig. 1a et b) qui constituent les liens entre les deux spirales de l'ADN ont une propriété particulière : elles ne peuvent se lier indifféremment entre elles : la base A s'associe toujours à la base T et la base C à la base G. Sans aucune exception, c'est chimiquement impossible.

Par conséquent, posséder un fragment d'un demi-brin d'ADN, c'est comme posséder une demi-fermeture éclair possédant 4 types de dents arrangées dans un ordre bien précis différent pour chaque individu. On ne pourra « zipper » cette fermeture que si l'on trouve une autre moitié possédant les dents exactement complémentaires, arrangées dans le même ordre.

:: En s'écartant, l'ADN (fig. 1a) crée deux demi-brins qui peuvent s'apparier (fig. 1b) à une nouvelle moitié complémentaire. C'est ainsi que le message génétique est dédoublé lors de la reproduction des cellules.

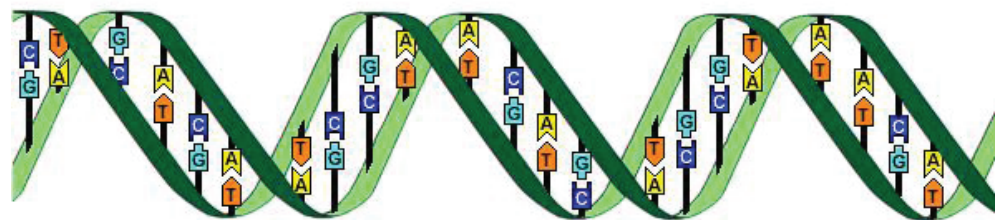


Fig.: 1a

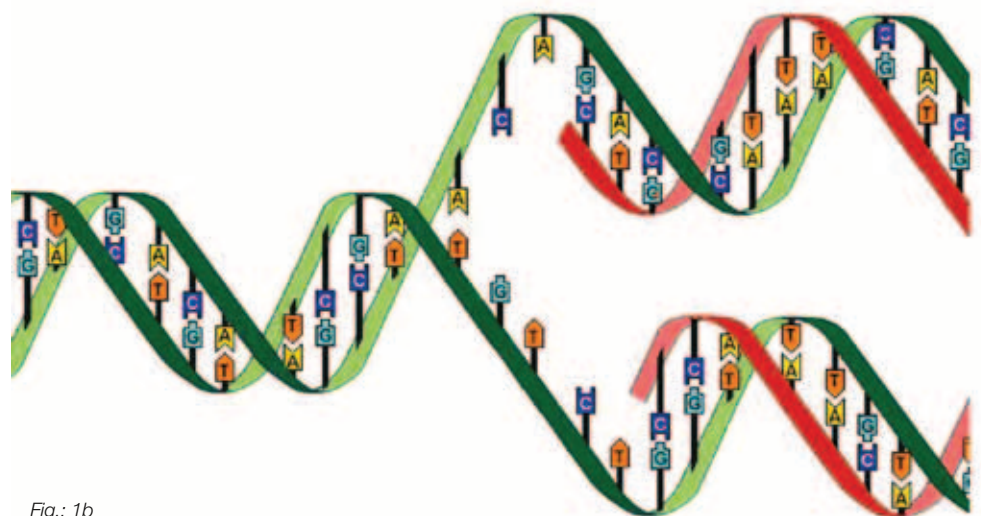


Fig.: 1b

On peut révéler ainsi qu'une goutte de sang est d'origine humaine ou non, quel est le sexe du porteur, ou même préciser son identité si l'on possède déjà un échantillon de son ADN pour le comparer : il suffit de vérifier que deux moitiés de ces brins d'ADN, l'un connu, l'autre non, peuvent s'emboîter exactement. De la même façon, on peut identifier une bactérie, une plante, un animal, ou vérifier que telle personne est le parent d'une autre, ou qu'elle est porteuse ou non d'un gène qui la prédispose à certaines maladies. Ou préciser quel type de cancer la frappe et donc adopter un traitement plus ciblé, etc.

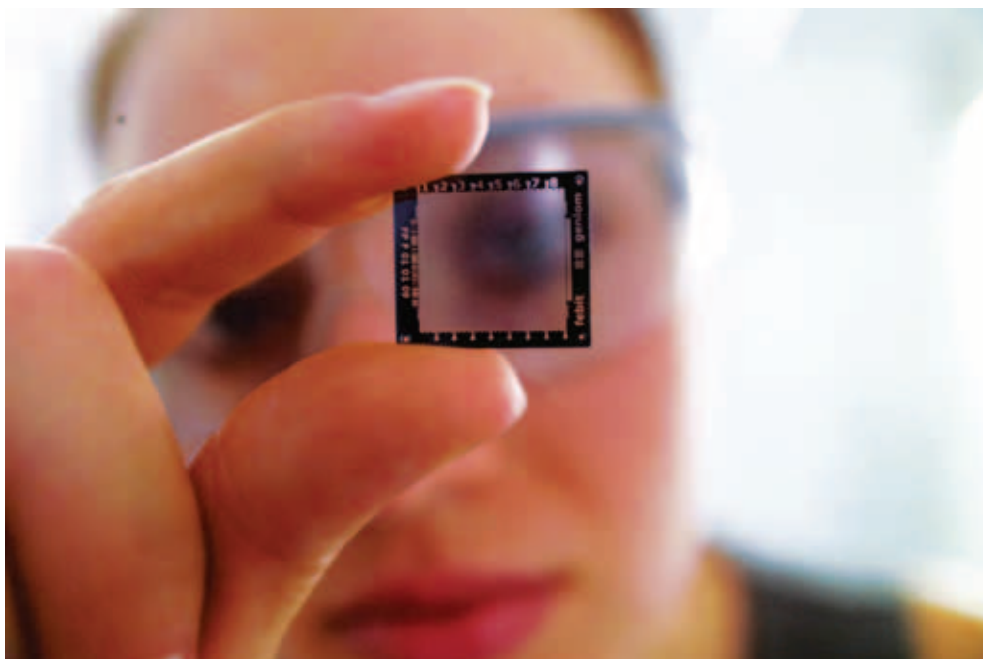
Tout cela est connu depuis longtemps mais présente un problème : réaliser pratiquement ces investigations en laboratoire demande du matériel coûteux, du personnel spécialisé et beaucoup de temps. Ces analyses, trop chères, n'étaient donc pas réalisables en routine, jusqu'à ce que quelqu'un ait l'idée de miniaturiser et d'automatiser ce travail de manipulation biochimique...

:: Miniaturiser la biologie

Nous sommes en 1989, dans les laboratoires de recherche d'une entreprise néerlandaise, Affymax, installée au soleil de la Californie, à Palo Alto, dans le nord de la Silicon Valley. L'équipe du biochimiste Stephen Fodor met au point un étrange prototype : la « puce à ADN ». Ce nom de « puce » s'inspire de

celui donné aux microprocesseurs informatiques, toujours plus petits eux aussi. Son principe : sur une surface de verre ou de plastique d'un centimètre carré, on dépose par une technique qui s'apparente à celle des imprimantes à jet d'encre, plusieurs milliers de micro-gouttelettes d'eau. Chacune des gouttes a un contenu différent : des échantillons de demi-brins d'ADN connus (on les appelle des « sondes »). Une fois ces gouttelettes évaporées, les demi-brins d'ADN sondes se fixent sur la paroi de verre. On dépose alors sur l'ensemble de la plaque une goutte d'eau contenant des copies des demi-brins d'ADN à identifier puis on les laisse réagir. Rapidement, les demi-brins inconnus vont se fixer sur les demi-brins sondes qui leur correspondent, les autres sondes restant incomplètes.

Après rinçage, comme on a pris soin de fixer chimiquement un colorant fluorescent aux demi-brins d'ADN à identifier, seuls les points minuscules où a eu lieu la réaction de recombinaison entre les deux demi-brins deviennent lumineux. Du moins pour l'œil électronique d'un appareil de lecture laser. Car lui seul est capable d'interpréter un micro-damier d'un centimètre de côté composé de plusieurs milliers de cases... À peine lancée, cette invention connaît un succès fulgurant : dès 1994, la biopuce est commercialisée en série.



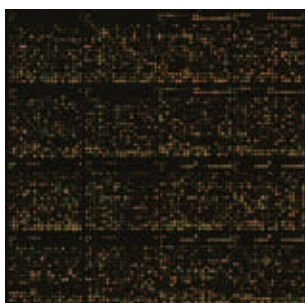
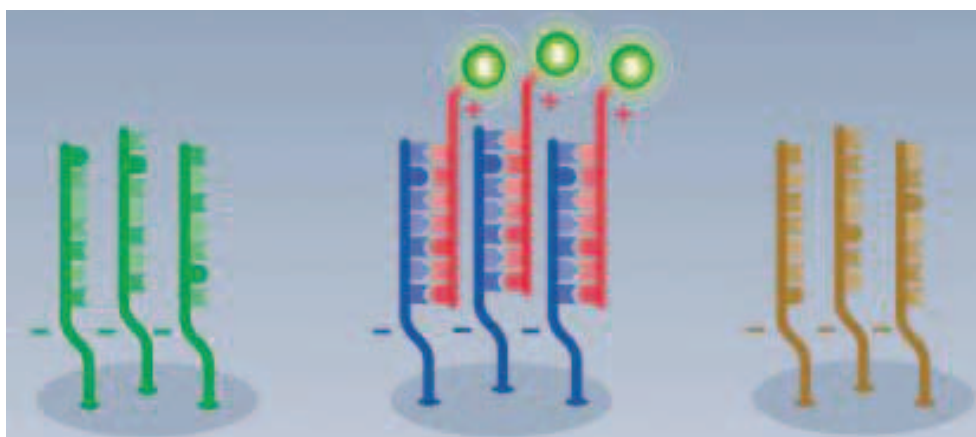
:: Comme l'électronique, la biologie est entrée dans la voie de la miniaturisation. Et d'autres connexions s'annoncent entre ces deux disciplines, associées à l'informatique (photo Geniom Biochip – Febit GmbH).

:: Et pendant ce temps, à Verviers...

Nous en avons presque oublié notre malheureux accidenté de la route et ses complications pulmonaires... Grâce aux travaux du professeur José Remacle, son sort va s'améliorer rapidement.

Direction Namur cette fois et nouveau bond dans le passé : en 1999, ce scientifique dirigeait l'Unité de recherche en Biologie Cellulaire des Facultés Universitaires Notre-Dame de la Paix. Avec quatre personnes aux compétences complémentaires, il

:: Essayer en une seule fois plusieurs milliers de serrures au moyen d'une seule clé sur laquelle on a fixé une lampe électrique qui ne s'allume que dans la bonne serrure... tel est le principe de la biopuce (doc. EAT).



:: Après réaction entre les demi-brins d'ADN, le damier (*array* en anglais) créé sur la biopuce doit être interprété par un appareil de lecture électronique couplé à une informatique adaptée (doc. University of Alberta – Faculty of Sciences – Department of Bioinformatics).

L'INNOVATION : UN PROCESSUS DE MATURATION INTELLECTUELLE



:: José Remacle, directeur scientifique d'Eppendorf Array Technology :
« L'innovation est le fruit d'une pensée rendue disponible. »

En 10 ans, EAT a déposé 65 brevets... Un chiffre qui en dit long sur la créativité des 40 cerveaux de l'entreprise. Et José Remacle a son idée sur la façon de les utiliser : « On axe trop notre éducation sur la partie rationnelle de notre cerveau : raisonnement, logique, mémoire. Dans les entreprises, c'est encore pire : il s'y ajoute les normes, les procédures, les plannings, l'optimisation... Tout cela est nécessaire, mais ce n'est pas la source de l'innovation. »

Selon José Remacle, la capacité d'innover se cultive ; mais il faut des personnes qui soient sensibles à cette approche, qui cultivent le raisonnement non logique, alternatif, créatif,

qui sachent penser les problèmes autrement.
« Nous avons constitué un groupe chargé de l'innovation. Ces personnes, qui ont un sens inné de la pensée latérale, n'ont pas à suivre les procédures d'organisation que nous avons établies, et qui sont excellentes en fabrication pour la reproductibilité et la fiabilité. Mais si nous voulons des choses nouvelles, nous devons détacher ces gens de procédures et leur donner du temps : l'innovation est un long processus de maturation intellectuelle. Un exemple : l'une de ces personnes est partie en vacances au Chili. En voyage, elle a pu voir un lac sombre aux eaux chargées, où la lumière ne pénétrait pas. Elle a associé cette image à un problème que nous avions sur un test où des effets de réflexion gênaient la lecture optique et elle a proposé qu'on utilise un fond sombre pour la cellule, ce qui a résolu le problème. »

Le professeur Remacle considère l'innovation comme le fruit d'une pensée nécessairement libérée et rendue disponible, par exemple par la pratique de la méditation. Une fois l'intuition éprouvée, il faut mettre en œuvre les ressources de la rationalité pour vérifier, valider, tester l'idée.

décide de fonder une entreprise et emmène dans l'aventure une partie de son équipe universitaire. Objectif de la jeune société AAT (*Advanced Array Technology*) : imaginer et fabriquer de nouvelles applications des biopuces. Trois ans plus tard, Eppendorf, le géant allemand des biotechnologies entre dans le capital et apporte ses puissants moyens. Dès le départ le succès est au rendez-vous et les dépôts de brevets se multiplient (voir encadré). Renommée *EAT* (*E* pour *Eppendorf*), la PME est actuellement en phase de validation pour une biopuce permettant d'identifier précisément le type de bactérie impliquée dans les affections respiratoires, comme celle dont souffre notre accidenté de Verviers. Sur cette nouvelle puce, les ADN des nombreuses souches différentes de la même bactérie pathogène sont utilisés comme sondes. L'ADN de la bactérie prélevée sur le patient est comparé à ces sondes et il faut seulement quelques heures pour fournir l'identité exacte de la bactérie. Comme les médecins savent quelle souche bactérienne est sensible à quel antibiotique, ils pourront immédiatement injecter l'antibiotique le plus efficace au patient, sans tâtonnements, sans perte de temps. Sauver des patients par des soins intensifs et finir par les perdre à cause d'une bactérie qui passe sera donc bientôt un mauvais souvenir pour les équipes médicales du monde entier.

:: L'avenir des biopuces

Les biopuces seront bientôt « réellement » électroniques : actuellement, c'est un marqueur fluorescent greffé sur un demi-brin d'ADN qui permet de visualiser la réaction. Mais le professeur Jacques Destiné, qui dirige l'Unité de Recherche *Microelectronics and Microsystems* de l'Institut Montefiore (ULg), travaille à supprimer cet intermédiaire : « *Quand les demi-brins se recombinent, il se produit un effet de champ électrique à cause du déplacement d'électrons dans la molécule. Si ces demi-brins sont fixés, non sur*

du verre, mais sur du silicium, on peut exploiter les propriétés semi-conductrices de ce matériau pour mesurer ces effets électriques et donc "lire" une biopuce directement en captant le signal électronique lancé par l'ADN. » À condition que l'informatique suive en aval. Et c'est là que le professeur Martial constate :

:: « Les bioinformaticiens vont devenir incontournables en biologie »

Accédant tout récemment à l'éméritat, le professeur Joseph Martial dirigeait jusqu'en juin dernier l'Unité Biologie Moléculaire et Génie Génétique du GIGA, le Groupe Interdisciplinaire de Génomique Appliquée de l'ULg. Lui aussi s'est intéressé à cette technologie des biopuces pour ses recherches sur les gènes qui s'expriment dans certains cancers : « *Lorsqu'on doit déposer jusqu'à 50.000 spots sur une seule puce de 1 cm², il faut faire appel aux dernières avancées de la micro-fluidique. On a réduit les volumes d'une façon extraordinaire : en une journée, on peut faire un travail de séquençage d'ADN qu'on mettait autrefois 4 ans à réaliser.* »

Tout cela n'est possible que par la connexion qui s'établit entre biologie et électronique mais surtout entre ces deux disciplines et l'informatique. « *Le rôle des bioinformaticiens est de plus en plus décisif dans les laboratoires de biologie,* constate Joseph Martial, *car les données biologiques à analyser se comptent désormais par dizaines de milliards.* »

Bientôt, des puces à ADN associées aux logiciels adéquats, pourront détecter en routine des « signatures » spécifiques de la présence de cellules cancéreuses ou d'agents infectieux, basées sur la détection de l'expression de certains gènes. Ce seront les vrais débuts de la médecine prédictive, avec les réponses nouvelles qu'elle va apporter et surtout les questions – éthiques notamment – qu'elle va poser.

En attendant, l'accidenté de Verviers est sorti du coma. Et le bonheur des siens est, lui, sans controverse. ■



:: Les travaux de l'équipe du professeur Jacques Destiné (ULg) conduiront à la connexion entre systèmes biologiques et systèmes électroniques.



:: Joseph Martial est le fondateur d'une des premières spin-offs wallonnes : EUROGENTEC. Cette entreprise liégeoise de biotechnologie a été l'une des premières à commercialiser des biopuces.

EN SAVOIR PLUS SUR LES BIOPUCES

Dossier complet sur:

www.parisdeveloppement.com/la-technopole-parisienne/3-poles-innovants/pole-sante/actualites-du-pole-sante/dossiers-dactualites-sante/dossier-biopuces-2007.html

