

***Don exceptionnel de la Fondation  
contre le Cancer : une machine  
pour lire 3 milliards de lettres***

De nombreuses maladies sont dues à des mutations dans un ou plusieurs de nos gènes. Au nombre d'environ 25 000, ceux-ci se trouvent dans nos chromosomes, longues molécules d'ADN dans lesquelles quatre lettres (A, T, G et C ; les bases adénine, thymine, guanine et cytosine pour les chimistes) se succèdent dans un ordre bien précis. Une mutation, c'est tout simplement le remplacement d'une 'lettre' par une autre, ou la perte d'une ou de quelques lettres, qui altère le sens du 'texte'. C'est exactement comme dans un mot qui change de sens (ou perd son sens) si on échange ou enlève une ou plusieurs de ses lettres. Identifier le gène muté dans une maladie est d'un grand intérêt, tant pour la comprendre que pour en faire un diagnostic précis. Mais la tâche est redoutable : l'ensemble de nos gènes représente un texte de 3 milliards de lettres !

Jusqu'il y a peu, la stratégie consistait à ne séquencer que les gènes dont on soupçonnait qu'ils pouvaient être mutés dans une maladie donnée. Effectué initialement à la main à raison de quelques centaines de bases (lettres) par jour, le séquençage a été progressivement automatisé et accéléré. Tout récemment, le développement de 'séquenceurs à haut débit' a permis de passer à la vitesse supérieure. Alors que les techniques classiques arrivent à séquencer au maximum 100 000 bases par jour, le séquençage à haut débit permet de dépasser les 20 milliards par jour.

Ceci change complètement la stratégie de recherche : trouver un gène muté ne demande plus de partir d'un *a priori* basé sur notre connaissance, encore très partielle, de la fonction des gènes : les mutations peuvent être recherchées dans virtuellement tous les gènes d'un seul coup, avec, bien sûr, un énorme travail d'analyse des données à la clef (ce dont s'occupe la bio-informatique), mais surtout la possibilité de découvrir de 'nouveaux' gènes impliqués dans les maladies...et donc d'en savoir plus sur la fonction de ces gènes méconnus.



Consciente de l'importance de cette technologie dans l'étude du cancer, la Fondation contre le Cancer a octroyé une enveloppe de 5,4 millions d'euros aux 7 Universités belges pour financer l'acquisition de gros appareillages. L'Institut de Duve, l'Université catholique de Louvain et les Cliniques universitaires St Luc, avec le Pr Miikka Vikkula de l'Institut de Duve comme porte-parole, recevront environ 1 million d'euros pour établir une plateforme de séquençage du génome à haut débit.

Cette nouvelle technique permettra d'étudier en profondeur l'origine des cancers et d'améliorer leur diagnostic et leur traitement. En effet, dans la plupart des cancers, l'on retrouve jusqu'à plusieurs dizaines de mutations, qui ne sont pas nécessairement les mêmes chez différents patients. Certaines jouent un rôle dans la genèse du cancer, alors que d'autres n'en ont pas. Le séquençage à haut débit facilitera le dépistage des mutations provoquant la cancérisation et fournira des points d'attaque pour la contrecarrer. A terme, il devrait mener à la mise au point de traitements sur mesure, en fonction des mutations identifiées. L'étude du marché est en cours (il existe plusieurs marques de séquenceurs à haut débit) et l'acquisition de l'appareillage est prévue pour le début de l'année 2011.

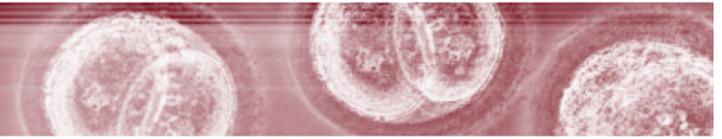
*Dans ce numéro :*

**Don de la Fondation contre le Cancer**

**Recherche fondamentale – recherche clinique**

**Nouveau microscope confocal**

**Sandrine MEDVES : Fonds MAURANGE**



## La recherche fondamentale et la recherche clinique : entre le laboratoire et les malades

Presque par définition, les résultats de la recherche scientifique sont souvent imprévisibles. Si c'est assez évident pour la recherche fondamentale, c'est souvent le cas également en recherche clinique. Un nouveau médicament développé pour une indication précise pourra se révéler tout aussi efficace dans une autre maladie. La différence entre recherche fondamentale et recherche clinique est donc moindre que certains le pensent, d'après les Professeurs **Pierre Coulie**, chercheur à l'Institut de Duve de l'UCL et **Jean-Pascal Machiels**, oncologue aux Cliniques universitaires St Luc.

Par conséquent, il faut rester aussi attentif face à un résultat ou une observation inattendus devant ses éprouvettes au laboratoire qu'au chevet du malade.

De plus, alors que l'on parle souvent de "recherche de transfert", le transfert est bidirectionnel. Bien sûr, il se passe généralement dans le sens de la recherche fondamentale vers une application de celle-ci. La plupart des nouvelles stratégies thérapeutiques ont d'abord été mises au point dans un laboratoire de recherche. On peut citer les nouveaux traitements anticancéreux qui ciblent l'angiogenèse, qui découlent de la découverte des facteurs de croissance et leurs récepteurs qui contrôlent la croissance des vaisseaux sanguins. C'est la raison pour laquelle la recherche dite fondamentale le reste et qu'il faut encourager les jeunes brillants à s'y engager. Mais il y a aussi un transfert depuis la recherche clinique vers des travaux fondamentaux. Soit parce qu'un médicament a un effet clinique inattendu, soit parce que des analyses peuvent affiner les indications thérapeutiques en prédisant la réponse ou résistance au traitement. Jamais autant que maintenant il n'a été possible d'investiguer au laboratoire ce qui se passe chez les malades. Et c'est en grande partie suite aux progrès fulgurants des techniques d'investigation en génétique. Il y a donc là un vaste champ d'action pour des médecins à l'esprit curieux, pour autant qu'ils soient formés à une recherche rigoureuse.

Deux commentaires à l'attention du lecteur.

Le premier est qu'il faut, aujourd'hui plutôt plus qu'hier, stimuler de jeunes médecins à entamer aussi une carrière scientifique. Et il ne faut pas les en décourager par des contraintes administratives qui allongent un parcours déjà bien long.

Le second est que cette recherche, que nos collègues anglo-saxons appellent "investigation clinique", se voit aujourd'hui asséchée par un carcan administratif et législatif qui vise à protéger les personnes.

Un petit exemple: alors que le caractère inattendu de beaucoup de découvertes importantes est une évidence, tout matériel humain (cellules, sang, biopsie tumorale, pièce opératoire, ...) ne peut plus être utilisé que pour des analyses et recherches prévues et décrites dans le consentement informé signé par le patient. Réfléchissons plutôt aux moyens de préserver l'anonymat des malades sans brider les possibilités d'investigation. Par ailleurs, les directives européennes en matière de recherche médicale sont malheureusement devenues si complexes et contraignantes que l'on peut se demander si, au final, les malades sont bénéficiaires ou victimes de la législation. Enfin, les frais administratifs encourus sont tellement élevés qu'ils deviennent difficiles à gérer pour des laboratoires ou services universitaires.

Le dialogue entre recherches fondamentale et clinique a pourtant changé notre vision du cancer, explique JP Machiels. Ce n'est plus une maladie homogène, identique chez tous les patients. Les méthodes modernes, entre autres de génétique, permettent d'identifier des groupes et sous-groupes de tumeurs, et le traitement adéquat va varier d'un groupe à l'autre.

A côté de la chirurgie qui reste une pierre angulaire de la prise en charge du cancer, les indications de radiothérapie, chimiothérapie, et des nombreux nouveaux traitements (hormonothérapie, anti-angiogenèse, immunothérapie, anti-oncogènes, ...) sont donc de plus en plus ciblées. Par ailleurs, l'attaque des tumeurs par différentes voies améliore les chances de succès et réduit le risque de récurrences. Mais le clinicien et le chercheur restent modestes et lucides: le quotidien de nombreux malades montre à quel point de nouveaux progrès sont souhaitables.

## Nouveau microscope confocal Première installation en Belgique



Depuis le 15 mai, un nouveau microscope confocal est en cours d'installation à la Plateforme d'Imagerie Cellulaire et Tissulaire (PICT), animée par **Pierre Courtoy** et administrée par **Patrick Van Der Smissen**.

La microscopie confocale est indispensable à l'imagerie biologique par fluorescence. Celle-ci connaît un essor extraordinaire, tant pour l'examen de préparations fixées selon les standards modernes, que pour la visualisation en temps réel des processus biologiques dans des cellules, des tissus, des explants, voire des organes entiers (microscope multiphotons, installé il y a 3 ans à la Plateforme).

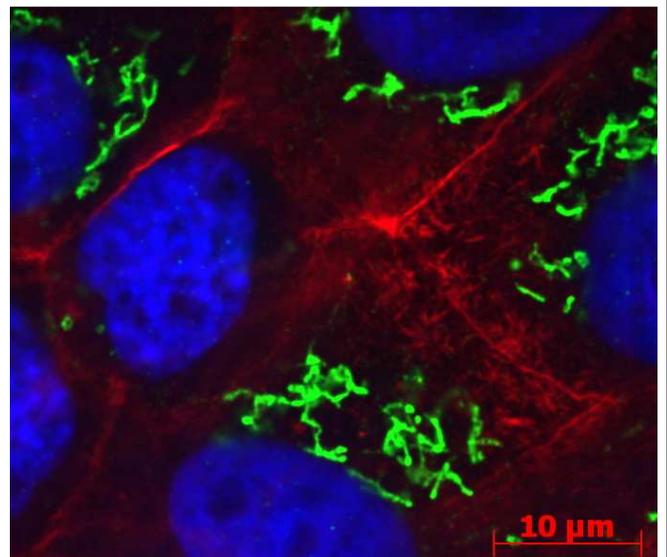
Ce n'est pas sans raison que la révolution de l'imagerie biologique par la fluorescence a valu le prix Nobel de chimie à Roger Tsien, Osamu Shimomura et Martin Chalfie en 2008 !

L'obsolescence du premier microscope confocal du Secteur de la Santé exigeait l'acquisition d'un nouvel équipement. Les responsables de la Plateforme ont saisi l'occasion pour se lancer dans une technologie d'excitation globale ultrarapide dite "spinning disk" pour imagerie multiparamétrique, dont c'est la première installation en Belgique.

Cette technologie accélère l'acquisition des images d'environ 10 fois, permet l'enregistrement de signaux dans 4 canaux simultanés et offre une résolution spatiale déjà exemplaire (Fig.1).

On peut prédire un gain supplémentaire considérable de cette résolution, grâce à la reconstruction tridimensionnelle et au transfert des fichiers primaires vers une station d'analyse approfondie "off-line", pour dégager le poste d'enregistrement central.

La seconde innovation majeure est le criblage à haut-débit d'images de haute résolution ("high-throughput, high-resolution imaging") par une approche encore limitée à très peu de laboratoires de par le monde. Cette approche s'appuie sur le couplage par va-et-vient entre le microscope et un processeur d'images, permettant la sélection objective rapide de sous-populations prédéfinies ("gating"), avec retour par relocalisation ciblée pour une nouvelle acquisition, à haute résolution cette-fois, ou après induction d'une réponse cellulaire programmée.



*Fig.1. Une première application : la polarisation apicale d'un épithélium rénal in vitro. La fixation d'une toxine extraite de l'amanite phalloïde (en rouge) révèle l'armature cellulaire d'actine (enchevêtrement des microfilaments) et permet de délimiter les profils cellulaires. Le marquage de l'ADN par un agent intercalant proche de certains médicaments anticancéreux (en bleu) souligne la complexité de la chromatine dans les noyaux. L'identification spécifique d'une protéine membranaire par des anticorps (en vert) illustre pourquoi l'on parle du "complexe" de Golgi : un réseau branché pour l'habillage final et le tri des macromolécules sécrétées par la cellule.*

### Application directe de cette technologie

Une application évidente est la réponse anticancéreuse des lymphocytes. La Plateforme espère ainsi franchir un saut qualitatif majeur, entre l'analyse patiente avec sélection subjective

d'images jugées représentatives, vers la définition objective de paramètres mesurés sur des grands nombres et à grande vitesse, indispensable à la biologie des phénomènes complexes et/ou rapides.

Bien sûr, le potentiel du nouvel équipement ne pourra être pleinement apprécié avant une période de mise au point incontournable. Cette période de mise en route, en partenariat étroit entre la Plateforme et la firme Zeiss, exige des affinements et des corrections de l'équipement et de ses interfaces informatiques, et l'optimisation de nombreux paramètres d'enregistrement. Nul doute que les nombreux chercheurs en cours d'écologie soient pressés d'en bénéficier au plus vite !

### Un grand merci aux sponsors et mécènes

Le mot de la fin est pour les remerciements. L'acquisition de ce nouveau fleuron de la Plateforme d'imagerie biologique à l'Institut de Duve n'aurait pas été possible sans la conjonction de nombreux financements, dont les principaux viennent du FNRS/FRS, de la Loterie Nationale, de l'UCL et du Secteur de la Santé, ainsi que de la Famille Delori.

A tous, un grand merci !

#### de Duve Institute

Association internationale sans but lucratif-AISBL

Av. Hippocrate 75, 1200 Bruxelles

[E] [de\\_duve\\_institute@uclouvain.be](mailto:de_duve_institute@uclouvain.be)

[W] [www.deduveinstitute.be](http://www.deduveinstitute.be)

Editeur responsable et personne de contact:

Yolande de Selliers, +32 2 764 75 87

Numéros de compte :

BIC: BBRUBEBB

210-0155300-55 (FORTIS)

IBAN: BE31 2100 1553 0055

BIC: GEBABEBB

310-0580000-26 (ING)

IBAN: BE59 3100 5800 0026

### Altérations génétiques des récepteurs à activité tyrosine kinase dans les leucémies.

**Sandrine MEDVES**

Bourse Fonds MAURANGE



Sandrine Medves, de nationalité française, est docteur en biologie moléculaire et cellulaire de l'Université de Strasbourg. Elle travaille chez Jean-Baptiste Demoulin, grâce à une bourse du Fonds Maurange.

Ce laboratoire étudie des récepteurs qui sont localisés à la surface des cellules et possèdent une activité tyrosine kinase.

Dans certaines leucémies, une mutation des chromosomes modifie ces récepteurs. C'est le cas d'un patient qui présentait une thrombocytémie grave, étudiée en collaboration avec le service d'hématologie des cliniques universitaires Saint-Luc. Le laboratoire a identifié une nouvelle translocation chromosomiques impliquant un récepteur (nommé PDGFR) et le gène KANK1, déjà lié à d'autres types de cancers. Cette translocation génère une protéine hybride, qui a été étudiée dans des cellules en culture.

Il a été montré qu'elle est capable de stimuler la prolifération des cellules en absence de facteurs de croissance.

D'autre part, cette oncoprotéine peut être bloquée par un médicament, l'imatinib (commercialisé sous le nom de Glivec). Ce médicament a été administré au patient porteur de la translocation et après quelques mois de traitement, ce dernier est considéré comme guéri.

L'équipe du Professeur Demoulin espère identifier des mutations de KANK1 et du récepteur PDGFR dans d'autres cas de leucémies.