



Séquençage à moyen débit

Un nouvel outil pour cibler les traitements HIV et préparer les greffes de moelle

Mieux cibler les traitements HIV grâce à une détermination précise des variants minoritaires et réduire l'incertitude quant à la compatibilité donneur-receveur lors des greffes de moelle : la technologie de séquençage à moyen débit lancée par Roche ouvre de nouvelles perspectives aux chercheurs, en attendant la sortie de trousse de diagnostic, prévue d'ici la fin de 2011.

En matière de séquençage de l'ADN, les laboratoires disposaient jusqu'ici d'appareils à faible débit capables de lire jusqu'à 96 échantillons en parallèle pour le diagnostic de routine ou d'appareils à très haut débit capables d'effectuer plus d'un million de lectures par run pour des travaux de recherche. Le GS Junior, que vient de lancer Roche, se situe à mi-chemin

entre ces deux pôles : il séquence jusqu'à 100 000 échantillons en parallèle après amplification clonale de l'ADN et répond à la fois à des besoins de recherche et de diagnostic. Du côté du prix, on notera qu'il est nettement mieux placé que les appareils à faible débit : « *C'est vraiment l'appareil de pailleasse pour tous* », souligne Éric Baud, chef de produit chez Roche.

Séquencer en une fois des fragments d'ADN de 500 bases

La principale innovation du GS Junior réside toutefois dans sa capacité à lire de longs fragments d'ADN : jusqu'à 500 bases, contre 50 à 100 pour les instruments à haut débit existants. Il devient



possible d'amplifier et de séquencer dans la foulée, sans avoir à redécouper les brins avant de les analyser. Un gain de productivité, donc, mais surtout de finesse dans l'interprétation : « *Un des avantages de la technologie Roche est de pouvoir haplotyper, c'est-à-dire déterminer des liens entre les mutations et donc leur présence sur un même brin d'ADN. C'est la seule technique de séquençage qui permette ce type de résultat* », précise Éric Baud.

En d'autres termes, le fait de travailler sur des fragments de 500 bases (et, à terme, de 1 000 bases) approfondit l'investigation menée par les chercheurs et la précise. Il en résulte déjà des applications innovantes dans deux domaines, le HIV et le typage HLA pour les greffes de moelle osseuse ; d'autres suivront sans doute, par exemple le HCV et le HBV.

Pour le HIV, l'objectif est de déterminer le traitement le plus adapté à chaque patient. Celui-ci est infecté par une souche majoritaire, facile à identifier, mais aussi par une multitude de variants minoritaires, voire ultraminoritaires, qui peuvent être résistants au traitement. Or, il existe plusieurs centaines de variants, et le séquençage à faible débit utilisé en diagnostic ne peut discerner ceux qui représentent moins de 20 % des souches présentes.

Il est possible d'être bien plus précis (0,5%) avec le très haut débit, mais cette technique, coûteuse, reste réservée à la recherche. Le GS Junior, qui est en

revanche à la portée de tous les laboratoires, détecte pour sa part des variants minoritaires présents à hauteur de 1 % et permet ainsi de tirer des conclusions sans ambiguïté : une réelle avancée pour les cliniciens, qui affineront ainsi leur stratégie thérapeutique.

Des trousseaux « recherche » à la fin de l'année

L'haplotypage devient encore plus essentiel pour le typage HLA préalable à des greffes de moelle osseuse : c'est à partir de ses résultats qu'on évalue la compatibilité donneur-receveur. Or, la diversité interindividus se traduit dans ce domaine par plus de 1 000 combinaisons possibles de gènes et de séquences. Le séquençage à faible débit, qui est associé à des techniques complémentaires, ne permet pas de les scruter en totalité : environ un tiers des analyses concluent à un résultat incertain, donc à la nécessité de rechercher un autre donneur.

Là encore, le GS Junior est à l'origine d'une rupture grâce au séquençage clonal et à la longueur des fragments d'ADN traités : la part d'incertitude passe de 35 % à 5 % environ, d'où une investigation plus rapide et une meilleure exploitation du « stock » de donneurs.

Pour valider ces deux voies prometteuses, Roche a réalisé d'importantes études alpha* en 2009 sur plusieurs sites euro-

péens : douze pour le HIV, dont deux en France, et onze pour le typage HLA. Elles ont conclu à la validité de la technologie et de l'approche, ainsi qu'à sa bonne reproductibilité intrasites et intersites. L'objectif était aussi de standardiser la phase de préparation des échantillons et de bien cerner les besoins des laboratoires : le kit qui leur sera proposé tiendra compte de leurs attentes, en particulier pour les choix d'exons.

Le protocole expérimental utilisé pour les études alpha sur HIV et HLA fera place d'ici la fin de l'année à des trousseaux « recherche ». Quant aux trousseaux de diagnostic marqués CE-IVD, elles devraient être disponibles au début de 2012.

Précisons toutefois que les applications du GS Junior ne se limiteront pas à ces deux innovations. En tant qu'outil de séquençage, il peut contribuer à tous types de travaux de virologie, de bactériologie, d'oncologie ou de recherche sur les maladies génétiques ; s'ouvrent également à lui les investigations en écologie et en écobiologie, pour lesquelles les chercheurs analysent fréquemment des métagénomiques.

Dans tous ces domaines, le séquençage sera à la fois plus rapide, plus approfondi et moins cher, puisque son coût sera celui du réactif.

* La synthèse de ces études fait l'objet d'une publication scientifique qui paraîtra avant l'été.

Contact Roche Diagnostics :
eric.baud@roche.com