



Biotechnologies et bioingénieries

Biomarqueurs

Christophe Junot

CEA

DRF/JOLIOT/SPI



Biotechnologies et bioingénieries : Enjeux (document stratégique)

- ↪ **les technologies de diagnostic et/ou d'analyse *in vitro* : pronostic, diagnostic précoce et efficace, suivi thérapeutique, médecine personnalisée**
- ↪ **leur implantation dans le vivant : biocompatibilité, bioactivité, biofonctionnalité, portabilité, longévité in situ**
- ↪ **les développements de biomatériaux (médecine régénératrice), remplacer les fonctions biologiques altérées ou insuffisantes**
- ↪ **les technologies associées à la bioproduction : renforcer la production à grande échelle de molécules (et cellules) biologiquement actives**



les technologies de diagnostic et/ou d'analyse in vitro :

pronostic, diagnostic précoce et efficace, suivi thérapeutique, médecine personnalisée (validation de biomarqueurs)

Les biomarqueurs

Le contexte national

Vers des méthodes de détection ultra-sensibles

Analyses *in situ*, cellule unique

Approches omiques

Validation des biomarqueurs



DVS BIOMARQUEURS ET TESTS COMPAGNONS

- Créé en juin 2014
- Co-porté par Inserm Transfert et l'ITMO Technologies pour la Santé d'Aviesan
- Les actions du DVS Biomarqueurs et Tests Compagnons pour 2016 :

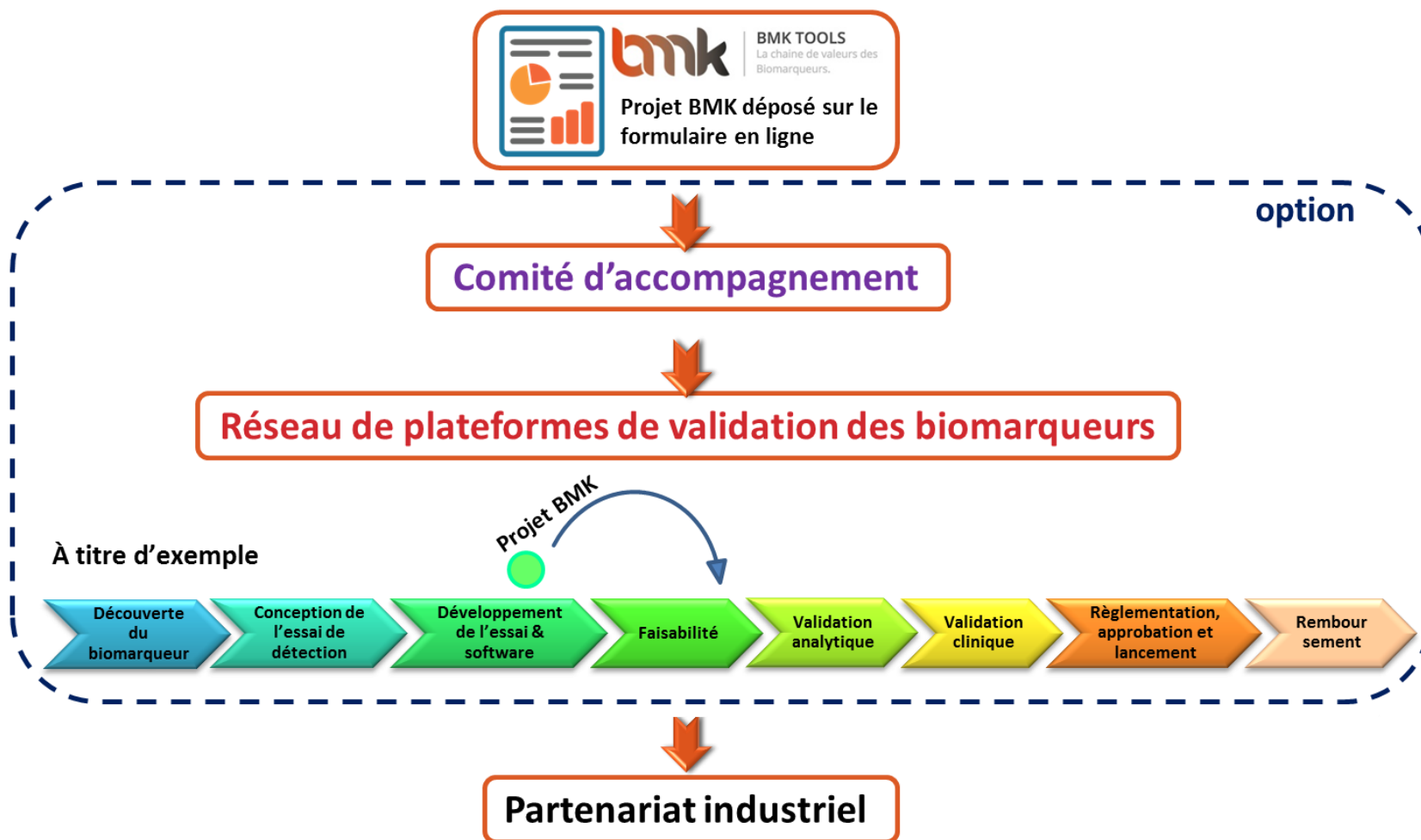
Lever le verrou plus « transversal » => La validation des biomarqueurs

- ➡ Mise en place des guidelines et de « fiches explicatives » sur les différentes étapes de la chaîne de valeur des biomarqueurs
- ➡ Créer un outil en ligne permettant le positionnement des projets sur cette chaîne de valeur
- ➡ Cartographier les plateformes de validation & mise en place d'un réseau de plateformes partenaires

Contact: Inês Amado, Chef de projets (ines.amado@aviesan.fr)
Pauline Solignac, Coordinatrice



DVS BIOMARQUEURS ET TESTS COMPAGNONS





DVS DISPOSITIFS MEDICAUX

Les **dispositifs médicaux (DM)** peuvent être des **équipements** (scanners, lits médicalisés...), des **consommables** (gants, seringues...), des **implants** (prothèses de hanche...), des **substances** (shampoings anti-poux...), des **lentilles ou des lunettes de vue**, ainsi que certains **logiciels ou applications**. En Europe, les DM sont définis dans la directive européenne 93/42/CEE.

Le DVS Dispositifs Médicaux a pour objectifs **de favoriser la détection et l'émergence de projets de recherche** qui conduiront à la mise sur le marché de **dispositifs médicaux innovants**.

Actualité: Animation stimulations cérébrales et nerveuses:

auditorium Biopark, 11 rue Watt, Paris 13e, le mardi 5 décembre, de 13h à 17h

Date de création: novembre 2014

Coordinateurs: Benoît Labarthe (Anne-Florence Fay) et Peggy Baudouin-Cornu

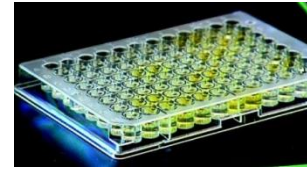
Cheffe de projets: Peggy Baudouin-Cornu (peggy.baudouin@aviesan.fr)



Acquisition des données:

ELISA sandwich traditionnel («analogue»)

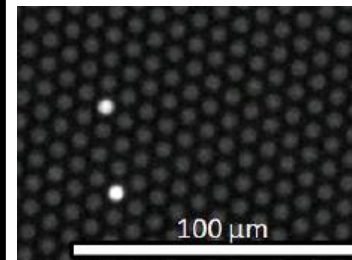
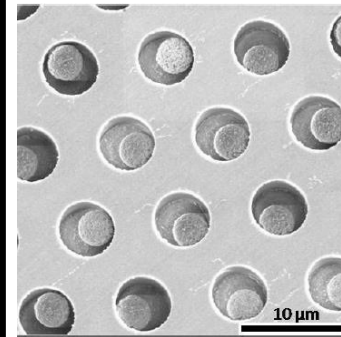
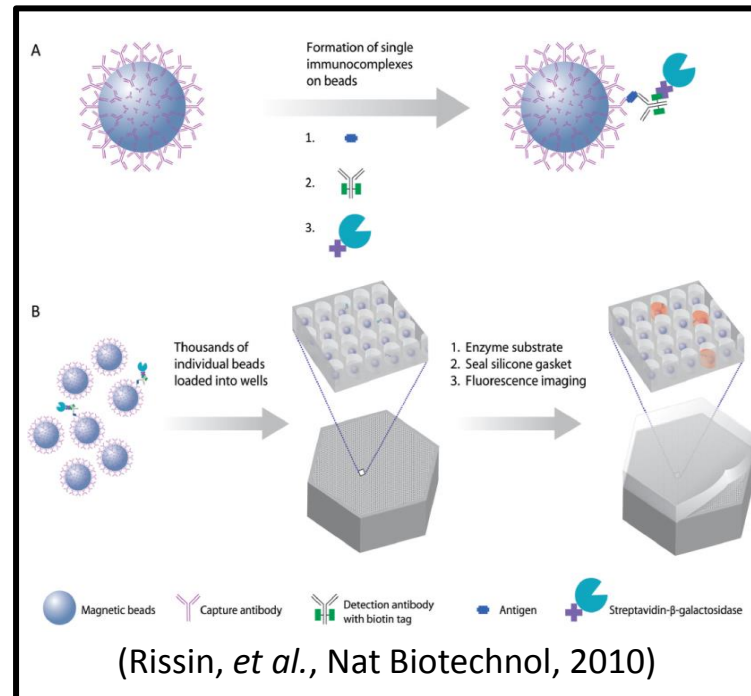
Dilution du produit de la réaction enzymatique (grand volume réactionnel).



Sensibilité de l'ordre du pg/ml (pM)

ELISA digital (SiMoA: Single Molecules Arrays) (Zhang, Y., Noji, H., Anal Chem 2017)

- Incubation de l'analyte avec un large excès de billes magnétiques (anticorps de capture).
- 0 ou 1 molécule fixée par bille puis partition d'une proportion de l'échantillon (1 bille par puits : $5 \cdot 10^4$ chambres d'incubation de 50fl).
- Concentration du produit de la réaction enzymatique (produit fluorescent).
- Comptage des molécules une par une: détection binaire (0/1).



Sensibilité de l'ordre du fg/ml (fM)

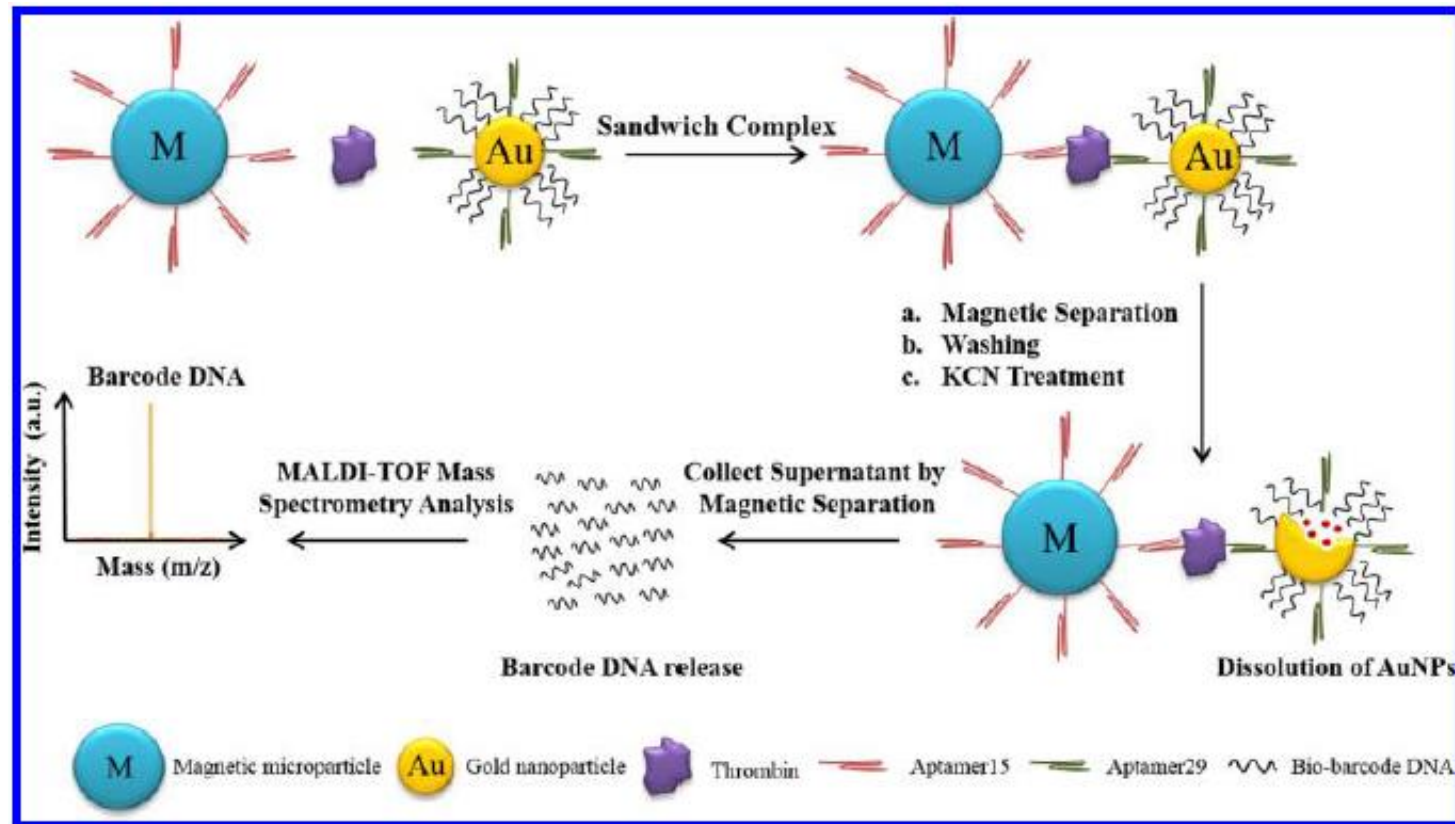


Acquisition des données:

Barcode DNA-Mediated Signal Amplifying Strategy for Ultrasensitive Biomolecular Detection on Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization Time of Flight (MALDI-TOF) Mass Spectrometry

analytical
chemistry

Raheel Ahmad,[#] Hyowon Jang,[#] Bhagwan S. Batule, and Hyun Gyu Park*^③





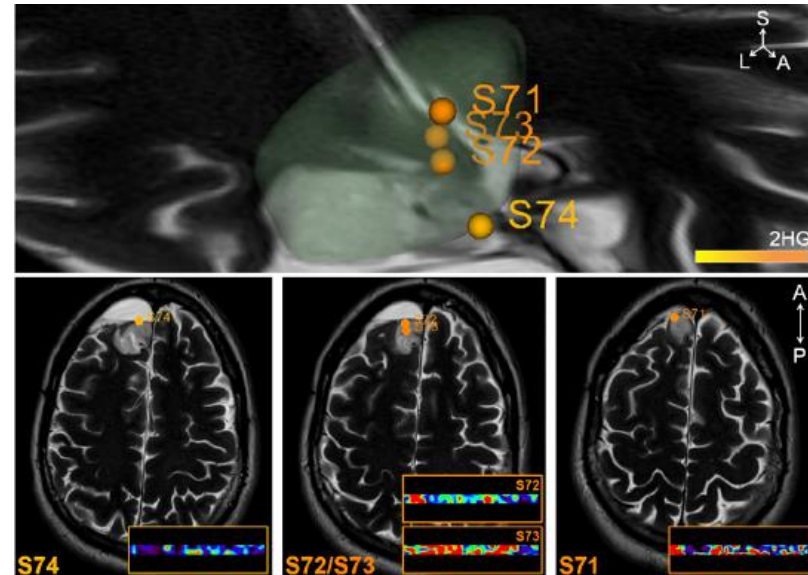
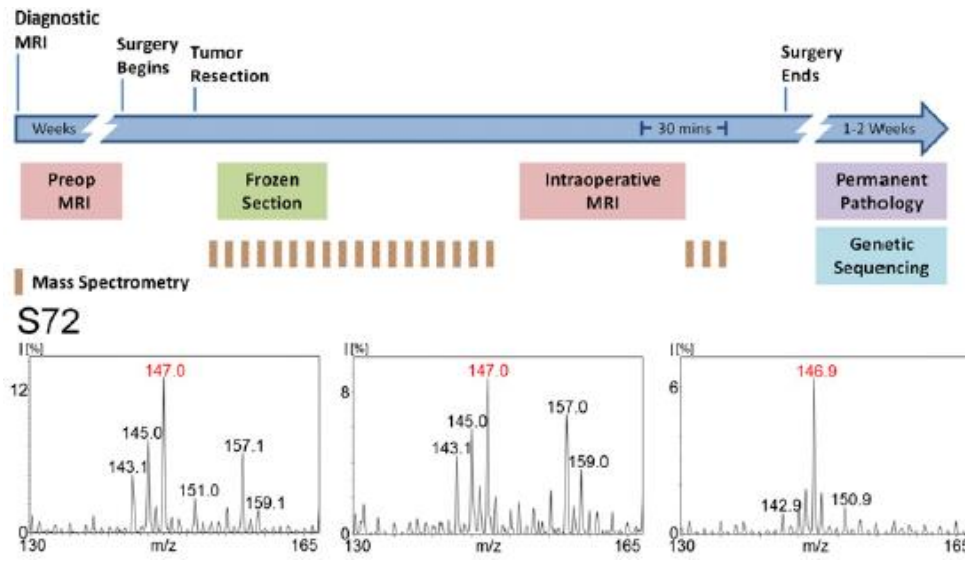
Acquisition des données: analyses *in situ*

Intraoperative mass spectrometry mapping of an onco-metabolite to guide brain tumor surgery

Sandro Santagata^{a,b,c,1}, Livia S. Eberlin^{d,e,1}, Isaiah Norton^f, David Calligaris^f, Daniel R. Feldman^{a,f}, Jennifer L. Ide^f, Xiaohui Liu^f, Joshua S. Wiley^{d,e}, Matthew L. Vestal^f, Shakti H. Ramkissoon^{a,b}, Daniel A. Orringer^f, Kristen K. Gill^a, Ian F. Dunn^f, Dora Dias-Santagata^g, Keith L. Ligon^{a,b,h}, Ferenc A. Joleszⁱ, Alexandra J. Golby^f, R. Graham Cooks^{d,e,2}, and Nathalie Y. R. Agar^{c,f,i,2}

Departments of ^aPathology, ^fNeurosurgery, and ⁱRadiology, Brigham and Women's Hospital and Harvard Medical School, Boston, MA 02115; ^bDepartment of Pathology, Boston Children's Hospital and Harvard Medical School, Boston, MA 02115; ^cDepartment of Cancer Biology, Harvard Medical School and Dana-Farber Cancer Institute, Boston, MA 02115; ^dDepartment of Chemistry and ^eCenter for Analytical Instrumentation Development, Purdue University, West Lafayette, IN 47907; ^gDepartment of Pathology and Center for Cancer Research, Massachusetts General Hospital and Harvard Medical School, Boston, MA 02115; and ^hDepartment of Medical Oncology, Center for Molecular Oncologic Pathology, Dana-Farber Cancer Institute, Boston, MA 02215

Edited by Jerrold Meinwald, Cornell University, Ithaca, NY, and approved June 4, 2014 (received for review March 13, 2014)





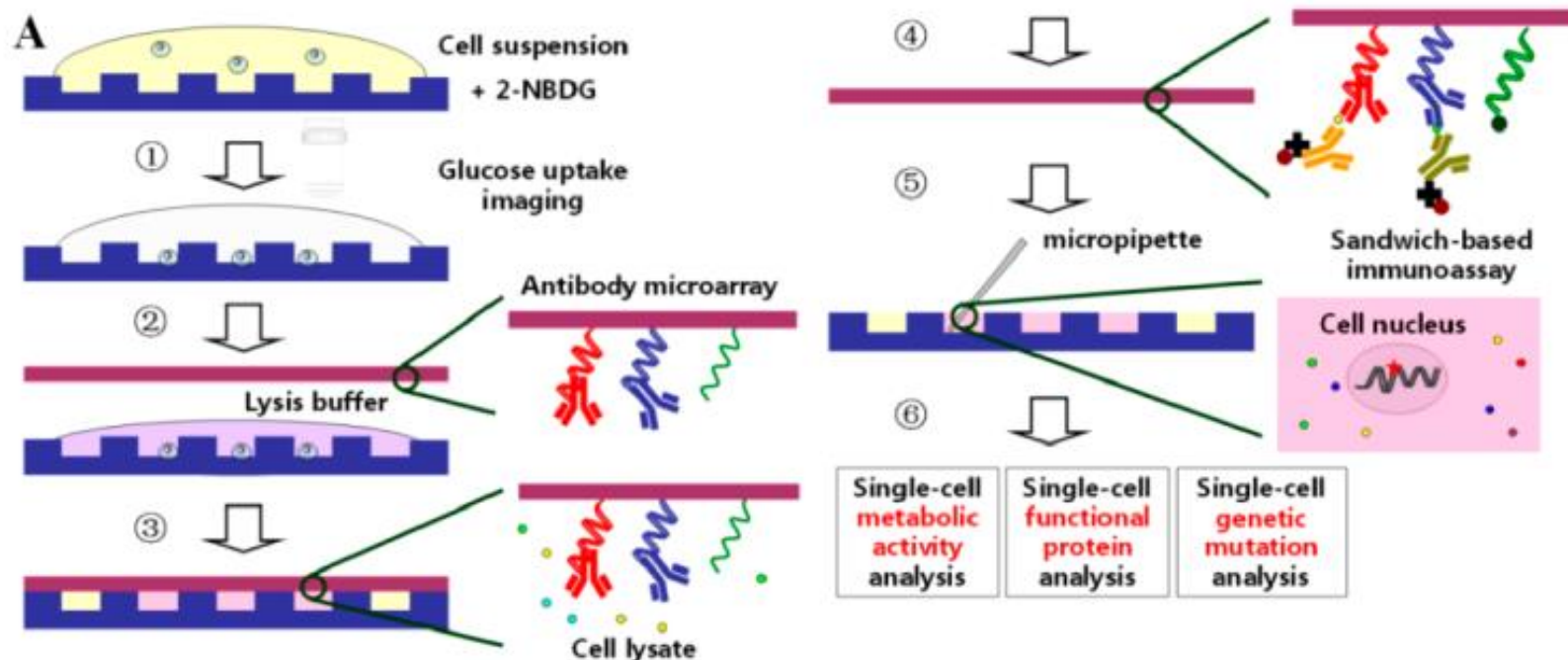
Acquisition des données: analyses sur «cellule unique»

Single-Cell Codetection of Metabolic Activity, Intracellular Functional Proteins, and Genetic Mutations from Rare Circulating Tumor Cells

Yu Zhang,[†] Yin Tang,[†] Shuai Sun,[†] Zhihua Wang,[†] Wenjun Wu,[†] Xiaodong Zhao,^{||}
Daniel M. Czajkowsky,^{||} Yan Li,[⊥] Jianhui Tian,[§] Ling Xu,[§] Wei Wei,[▽] Yuliang Deng,^{*,†}
and Qihui Shi^{*,†,‡,||,#}

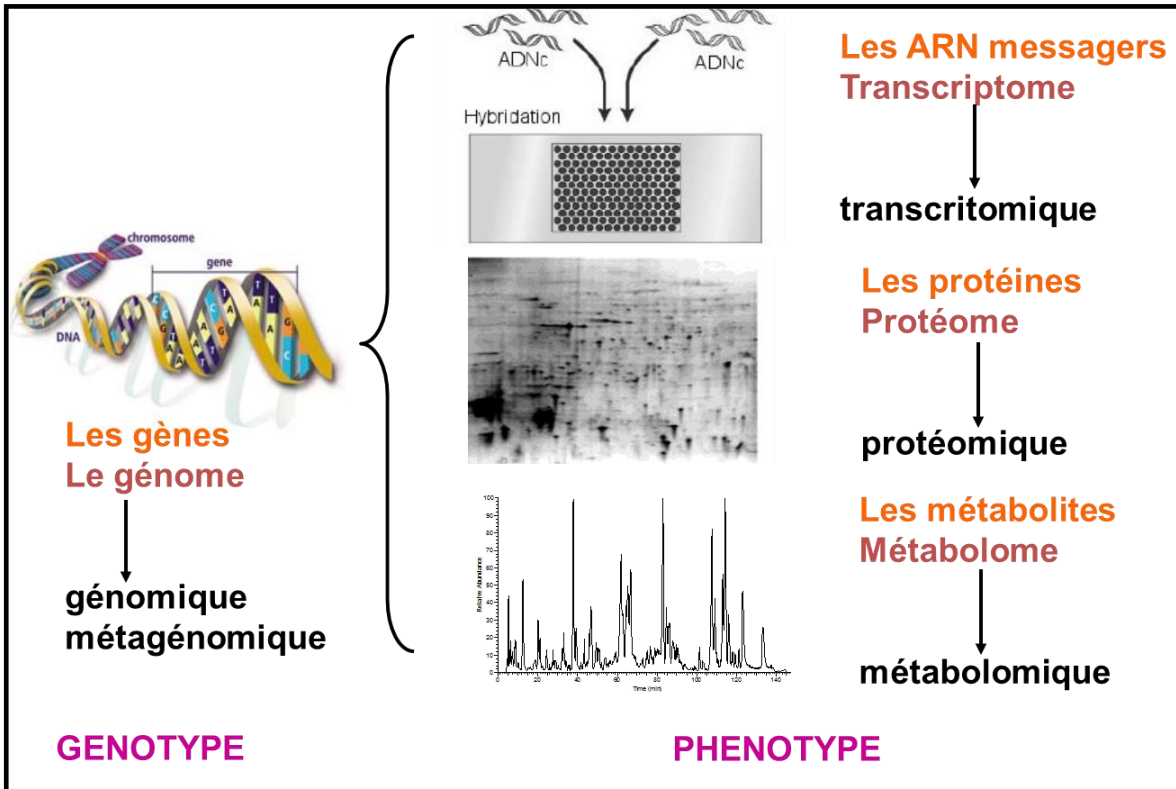
**analytical
chemistry**

DOI: 10.1021/acs.analchem.5b01901
Anal. Chem. 2015, 87, 9761–9768





Les principaux enjeux des approches « omiques »



Acquisition des données
Protocoles « haute performance »

Partage des données
Normalisation, quantification
Tests inter-laboratoires
Traitement en ligne des données

Intégration des données



Acquisition des données: protocoles «haute performance» pour les analyses de grandes cohortes

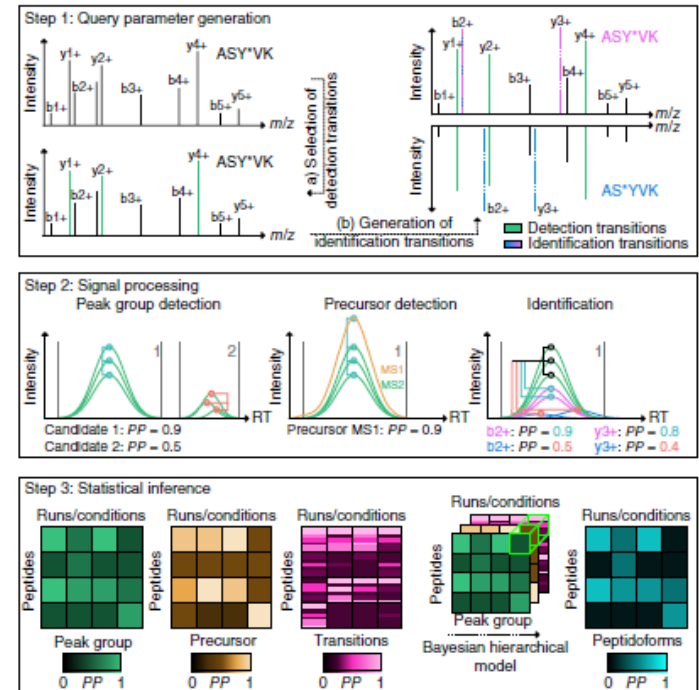
Protéomique ++, Métabolomique?

nature
biotechnology

published online 12 June 2017; doi:10.1038/nbt.3908

Inference and quantification of peptidofoms in large sample cohorts by SWATH-MS

George Rosenberger^{1,2,11}, Yansheng Liu^{1,11}, Hannes L Röst^{1,3}, Christina Ludwig^{1,4}, Alfonso Buil⁵, Ariel Bensimon¹, Martin Soste⁶, Tim D Spector⁷, Emmanouil T Dermitzakis⁸, Ben C Collins¹, Lars Malmström^{1,9} & Ruedi Aebersold^{1,10}



(d'après Fenaille F., J. Chromatogr. A, 2017)

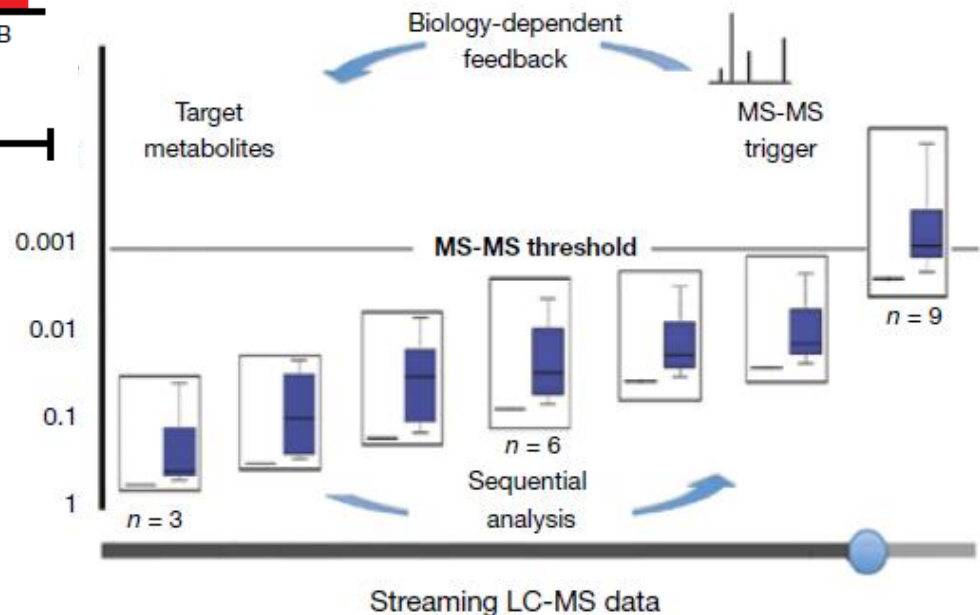
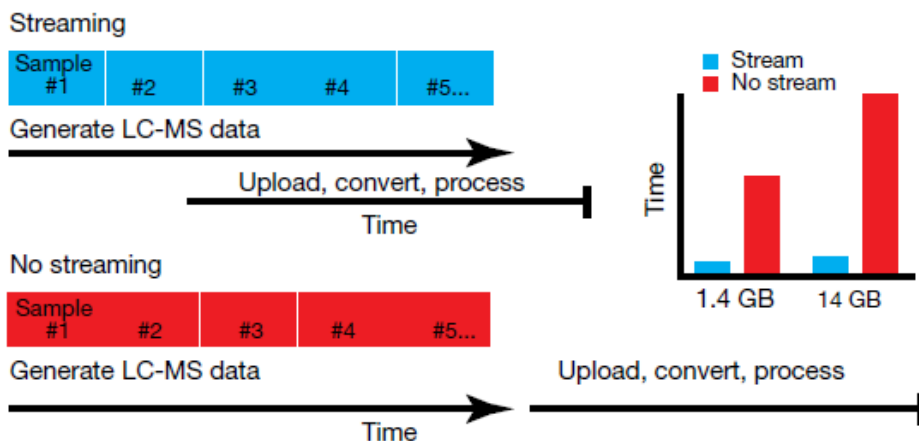


Partage des données: Traitement en ligne des données

VOLUME 32 NUMBER 6 JUNE 2014 **NATURE BIOTECHNOLOGY**

Metabolomic data streaming for biology-dependent data acquisition

Duane Rinehart^{1-4,9}, Caroline H Johnson^{1-4,9}, Thomas Nguyen¹⁻⁴, Julijana Ivanisevic¹⁻⁴, H Paul Benton¹⁻⁴, Jessica Lloyd⁵⁻⁷, Adam P Arkin⁸, Adam M Deutschbauer⁸, Gary J Patti⁵⁻⁷ & Gary Stuzdak¹⁻⁴

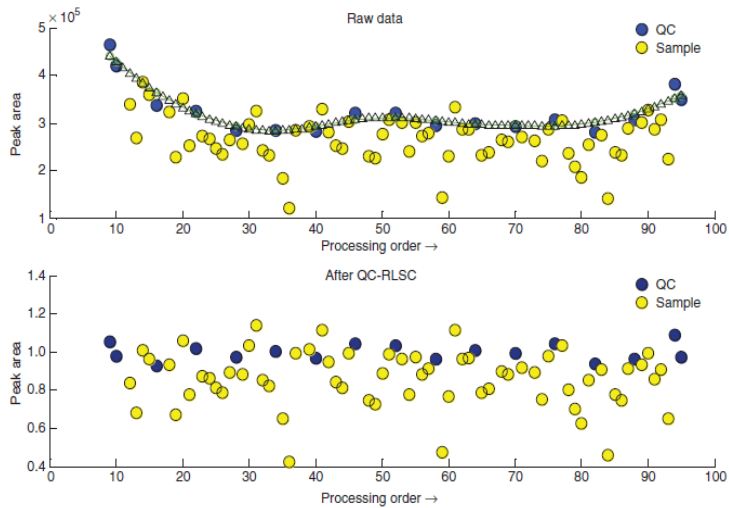




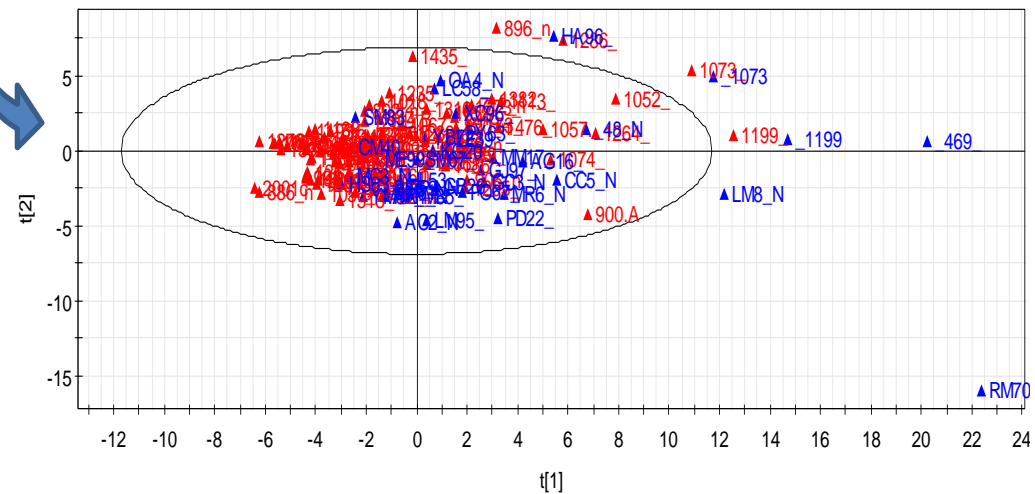
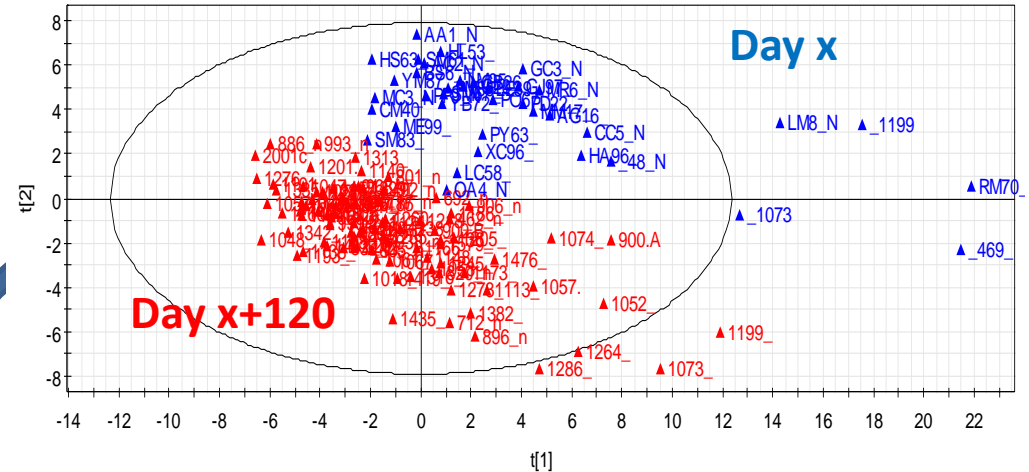
Partage des données: Normalisation en métabolomique

Normalization by using an «inter-batch QC» that is analyzed in all of our experiments

Normalization is achieved thanks to a weighting coefficient that is calculated for each feature detected in «inter-batch QCs»



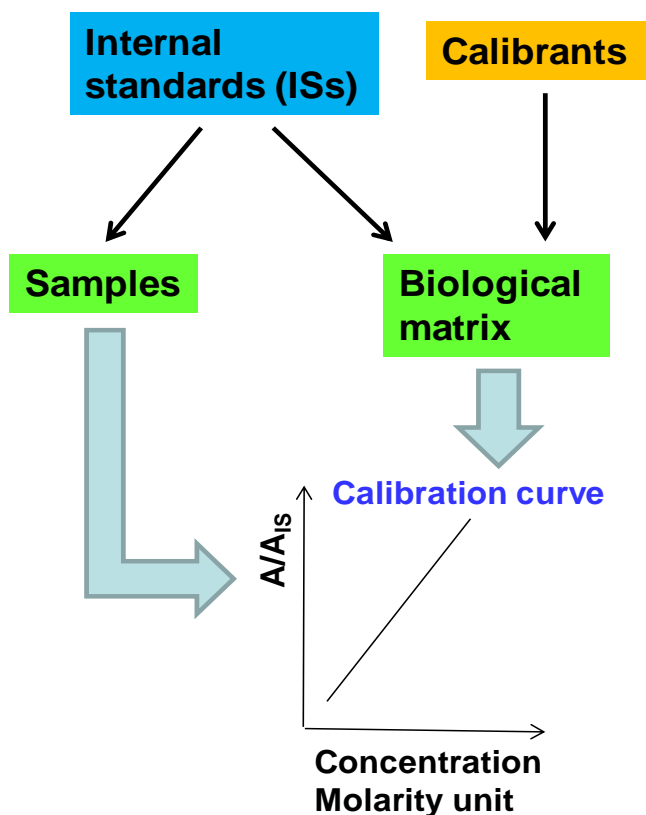
(Dunn WB, Nat Protocols, 2011)



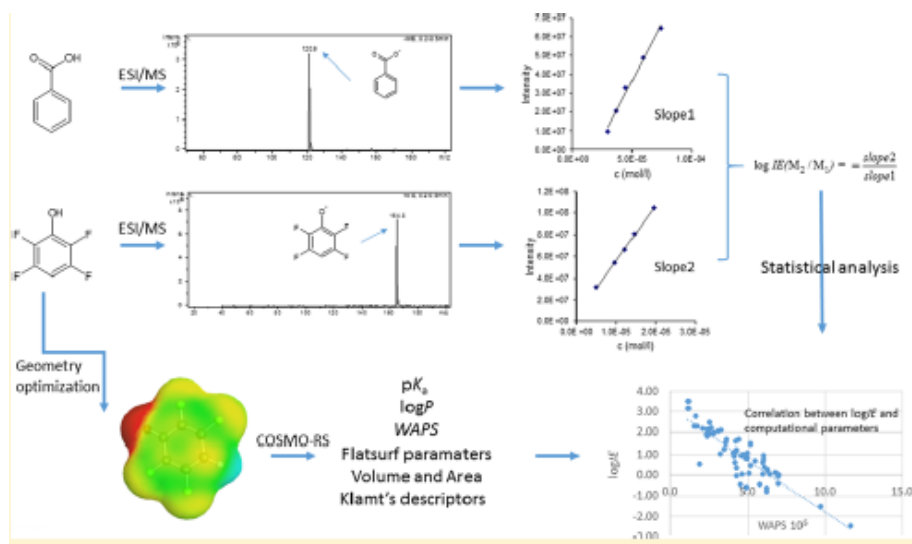


Partage des données: Quantification absolue à large échelle

Absolute quantification of metabolites



- ^{13}C - and/or ^{15}N based Metabolic labeling
- Chemical labeling
- Derivatization: dansyl chloride...
(Guo K, Anal Chem., 2009)
- Prediction of ionization efficiency



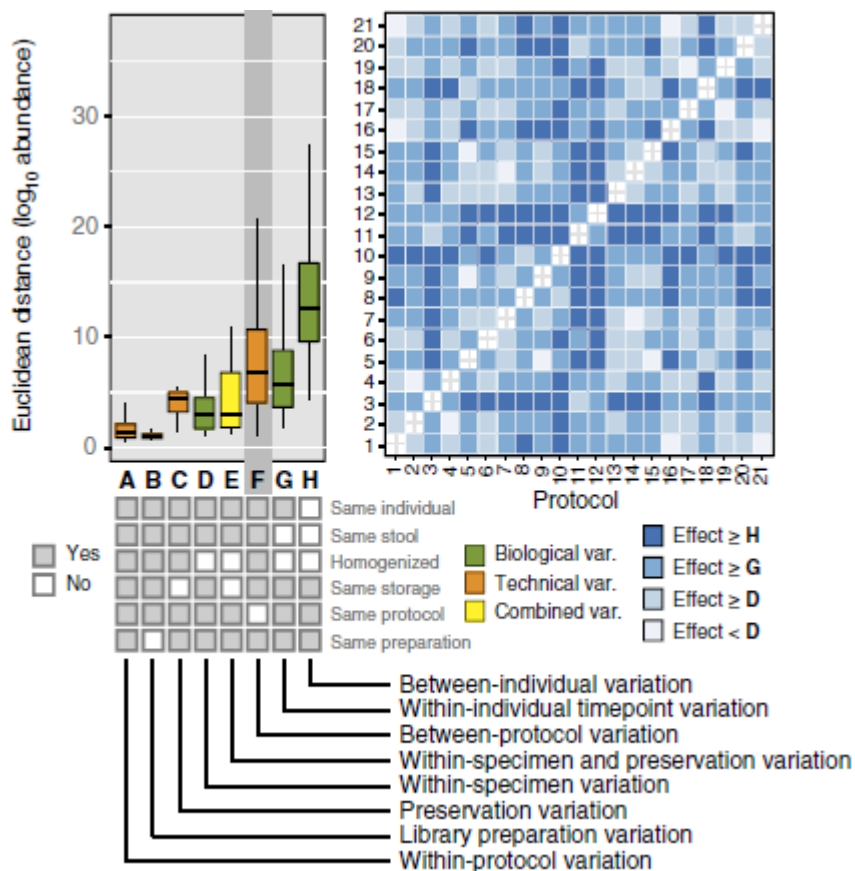
(Kruve A., Anal. Chem., 2014)



Partage des données: Standardisation

Towards standards for human fecal sample processing in metagenomic studies

NATURE BIOTECHNOLOGY VOLUME 35 NUMBER 11 NOVEMBER 2017



NIST plasma samples (SRM 1950) for metabolomics and lipidomics



(Simon-Manso Y et al., Anal. Chem., 2013)

Journal of Lipid Research: Full Article

Harmonizing Lipidomics: NIST Interlaboratory Comparison Exercise for Lipidomics using Standard Reference Material 1950 – Metabolites in Frozen Human Plasma

John A. Bowden^{*1}, Alan Heckert², Candice Z. Ulmer¹, Christina M. Jones¹, Jeremy P. Koelme¹³

Validating Quantitative Untargeted Lipidomics Across Nine Liquid Chromatography–High-Resolution Mass Spectrometry Platforms

Tomas Cajka,[†] Jennifer T. Smilowitz,^{‡§} Oliver Fiehn^{*†,1}

**analytical
chemistry**

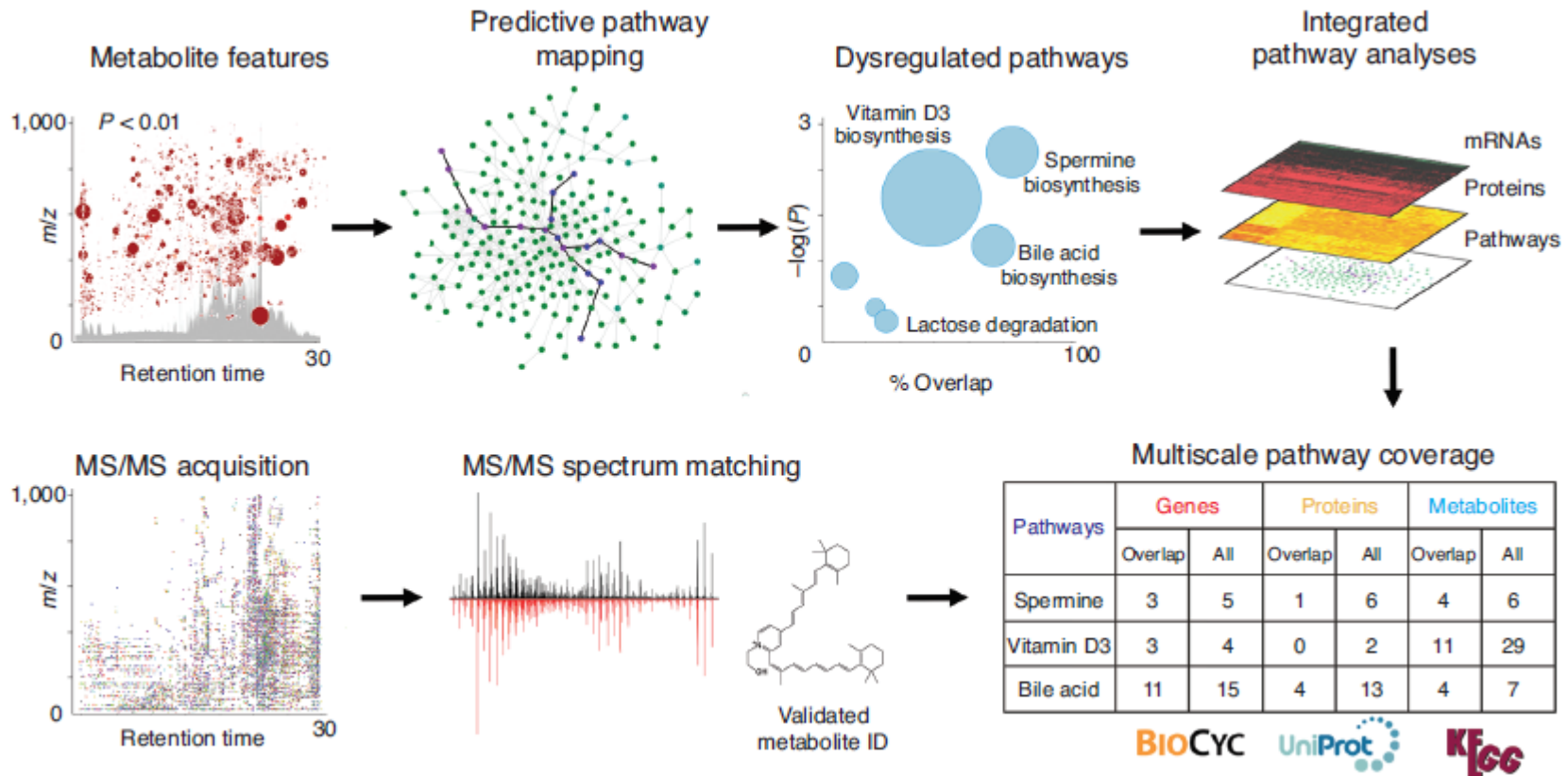


Intégration des données

NATURE METHODS | VOL.14 NO.5 | MAY 2017 | 461

Systems biology guided by XCMS Online metabolomics

Tao Huan^{1,13}, Erica M Forsberg^{1,13}, Duane Rinehart¹,
Caroline H Johnson^{1,2}, Julijana Ivanisevic³, H Paul Benton¹,
Mingliang Fang^{1,4}, Aries Aisporna¹, Brian Hilmers¹,
Farris L Poole⁵, Michael P Thorgersen⁵, Michael W W Adams⁵,
Gregory Krantz⁶, Matthew W Fields⁶, Paul D Robbins⁷,
Laura J Niedernhofer⁷, Trey Ideker⁸, Erica L Majumder⁹,
Judy D Wall⁹, Nicholas J W Rattray^{2,10}, Royston Goodacre¹⁰,
Luke L Lairson¹¹ & Gary Siuzdak^{1,11,12}



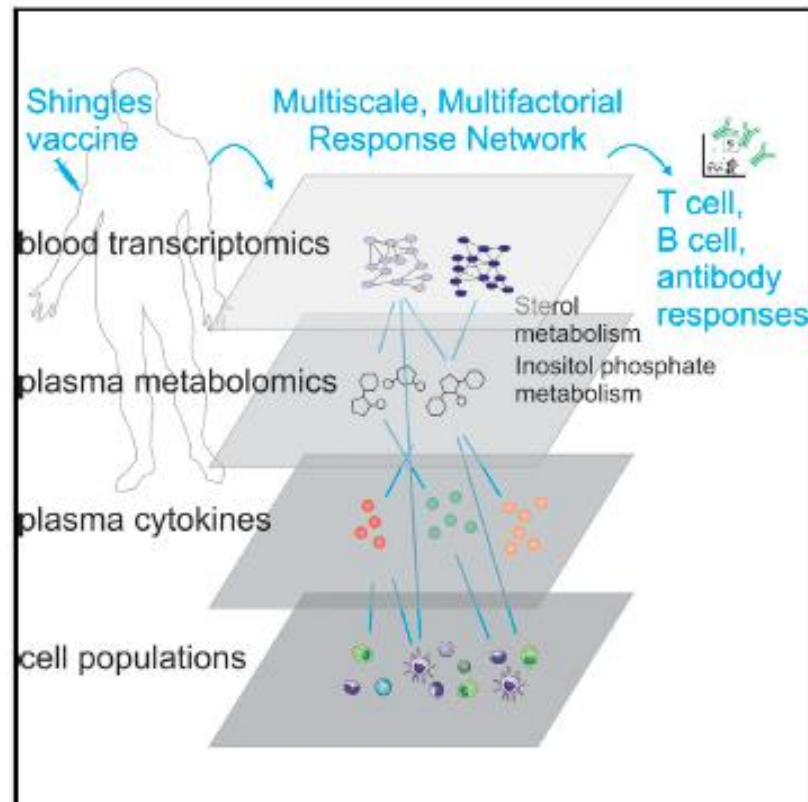


Intégration des données

Cell

Metabolic Phenotypes of Response to Vaccination in Humans

Graphical Abstract



Authors

Shuzhao Li, Nicole L. Sullivan,
Nadine Rouphael, ..., Myron Levin,
Rafi Ahmed, Bali Pulendran

Correspondence

bpulend@emory.edu

In Brief

An integrated metabolic response underlies the immune response to shingles vaccine in humans.

Highlights

- Integrative analysis of orthogonal data on response to vaccination
- Strong association between plasma metabolomics and PBMC transcriptomics
- Sterol metabolism integrates cellular and humoral responses
- Metabolic phenotype, such as inositol phosphate metabolism, influences immune outcome



Validation des biomarqueurs

**Despite numerous publications, few omics-based biomarkers
have been translated successfully into clinical tests**

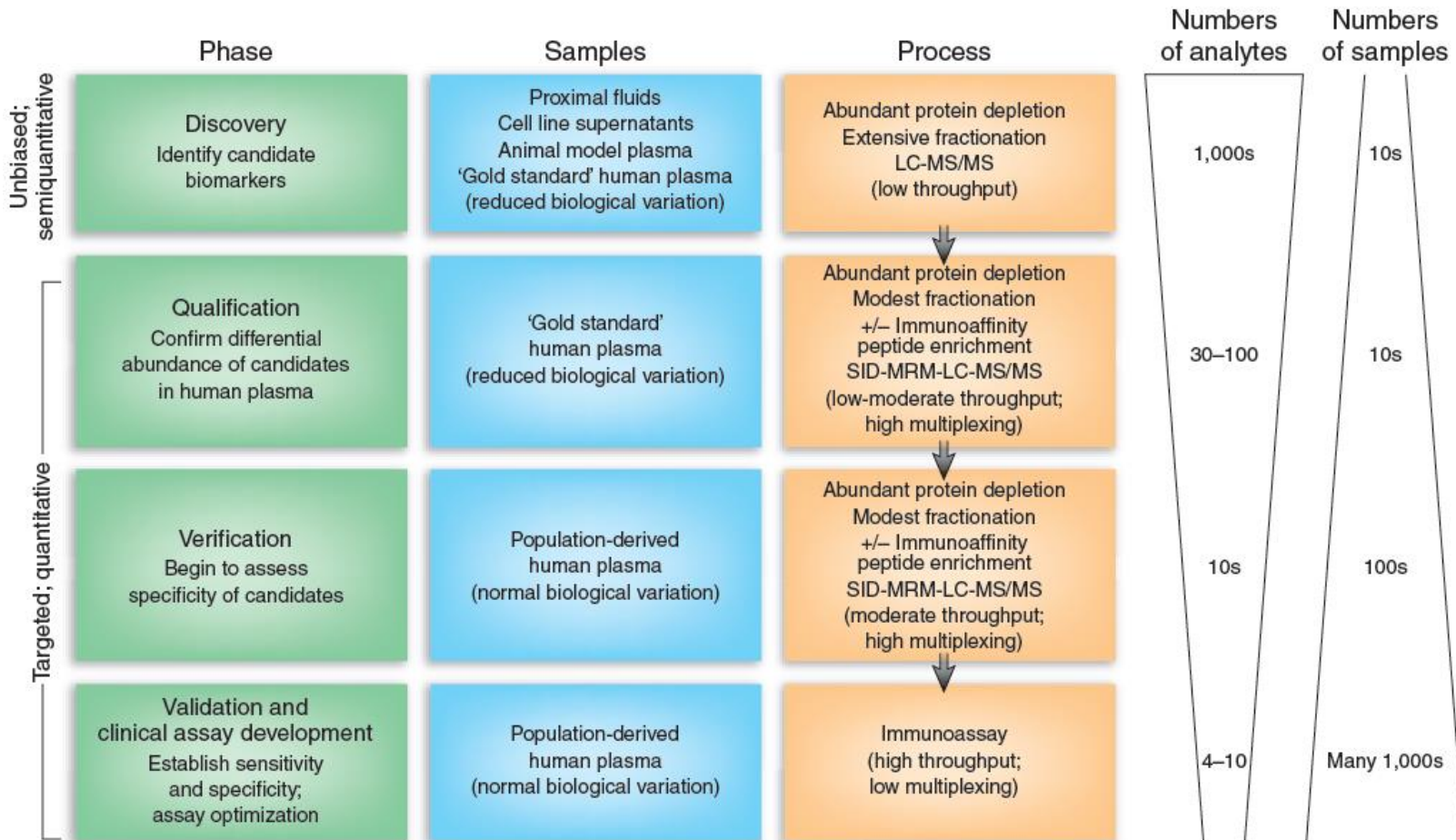
(McShane LM, Nature, 2013)



- (i) Technological issues**
- (ii) the lack of availability of large cohorts for candidate validation**
- (iii) the lack of integrated and formalized pipeline for biomarker discovery and development.**
- (iv) Establishing the biological relevance is challenging**



Pipelines for biomarker discovery and development



Katie Rits

(Rifai N., Nat. Biotechnol., 2006)



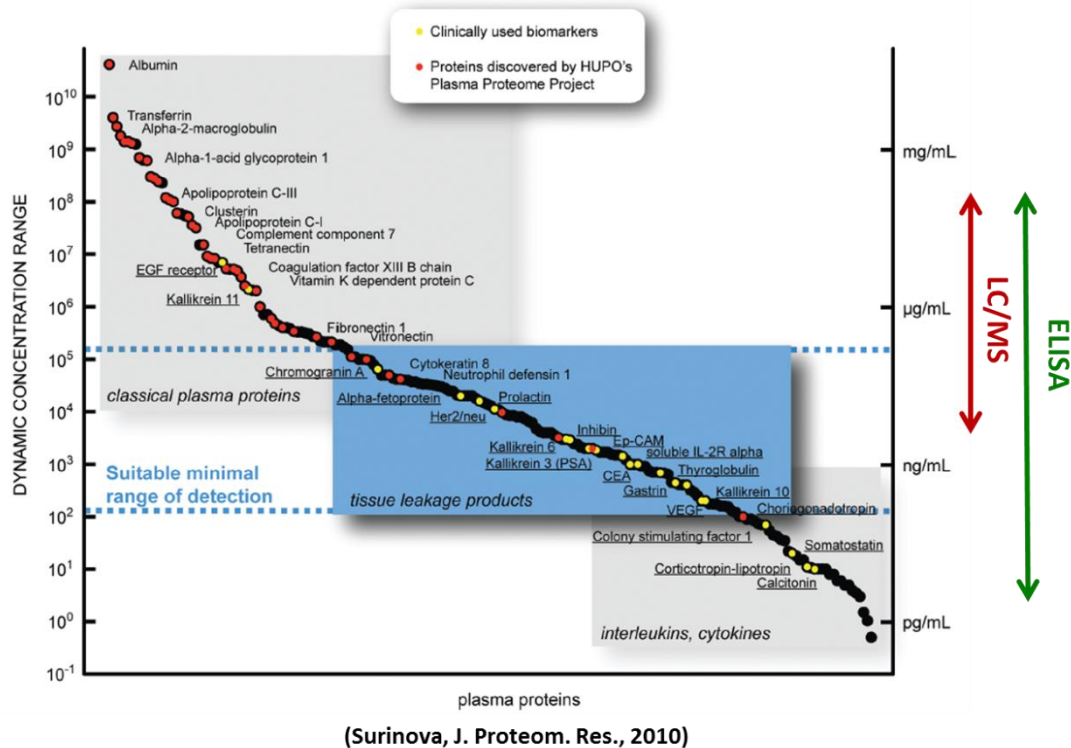
Validation des biomarqueurs

Immunodosages: référence, simplicité ++

MAIS nécessité de validation

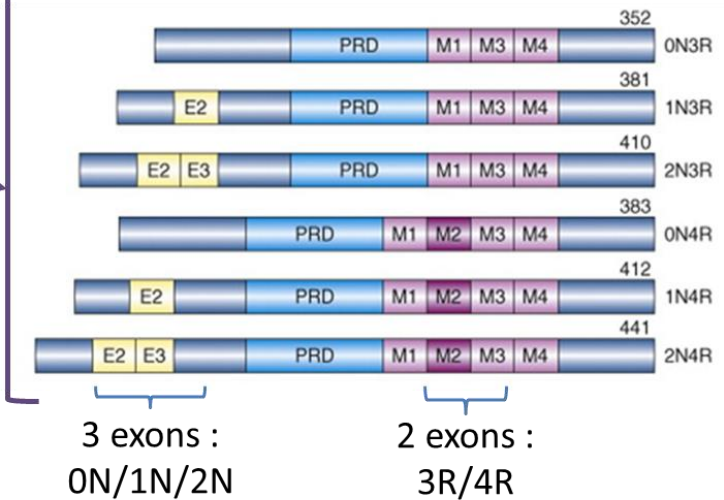
LC/MS: de plus en plus utilisée

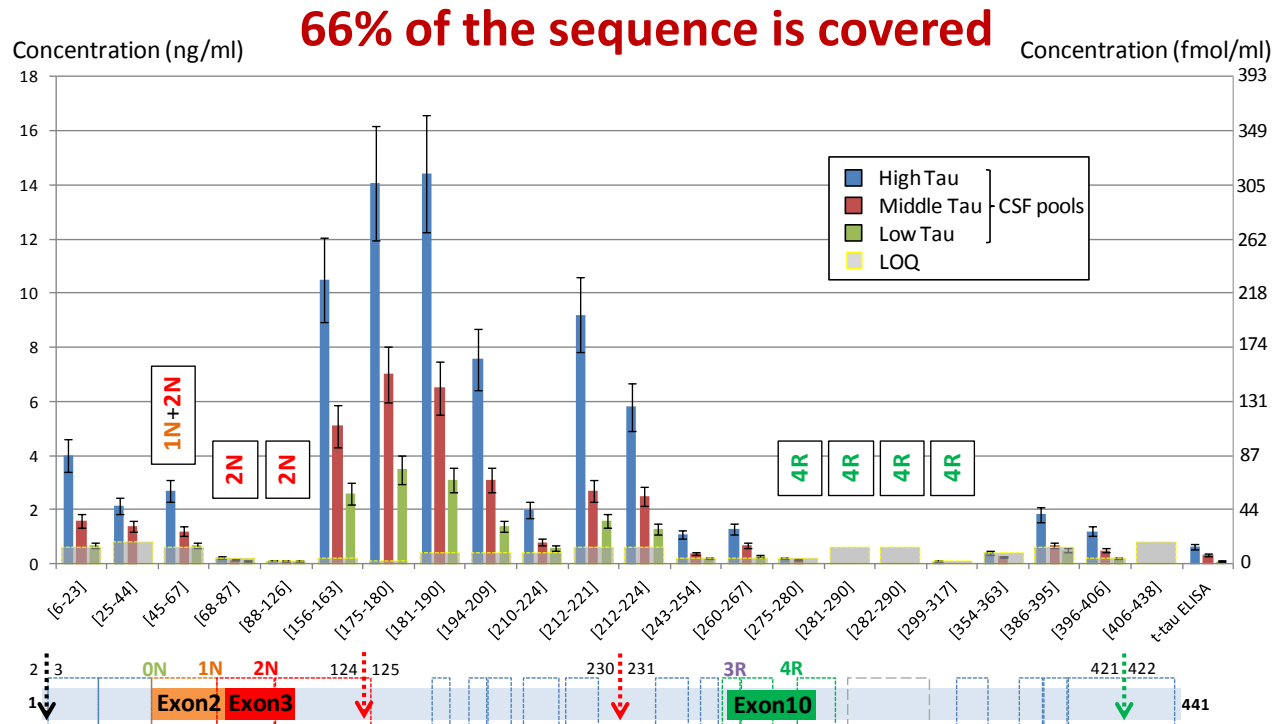
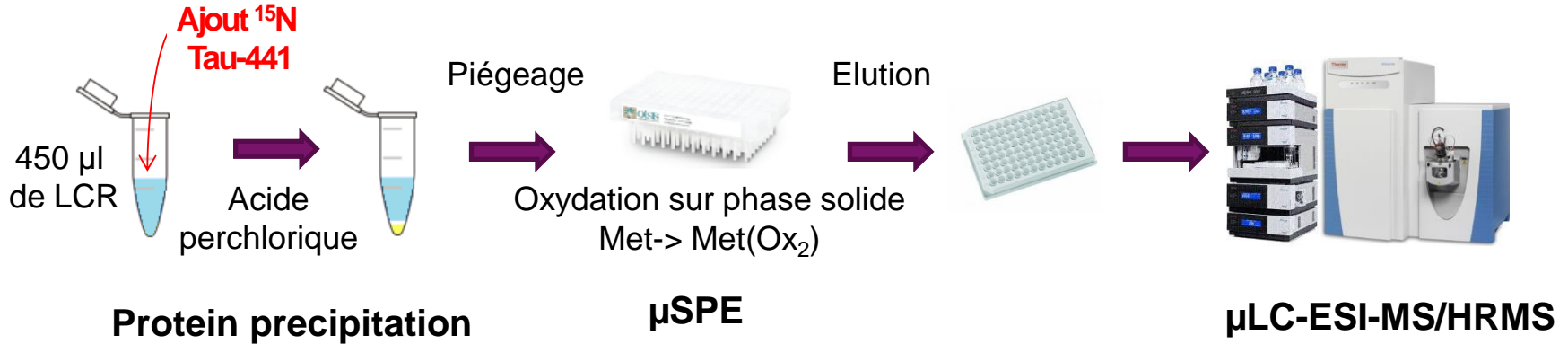
MAIS manque de sensibilité



Hétérogénéité, protéoformes

6 isoformes (épissage alternatif)





Coll. Pr. S. Lehmann, Dr. L. Buée

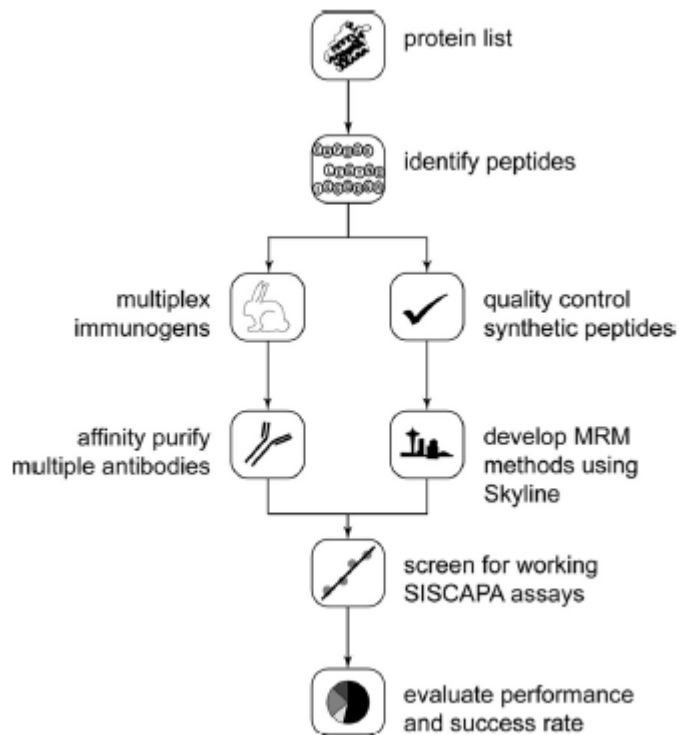
(Barthélémy et al., 2016)



SISCAPA Peptide Enrichment on Magnetic Beads Using an In-line Bead Trap Device*

N. Leigh Anderson¹§, Angela Jackson¹¶, Derek Smith¹¶, Darryl Hardie¹¶, Christoph Borchers¹¶, and Terry W. Pearson¹¶

Molecular & Cellular Proteomics

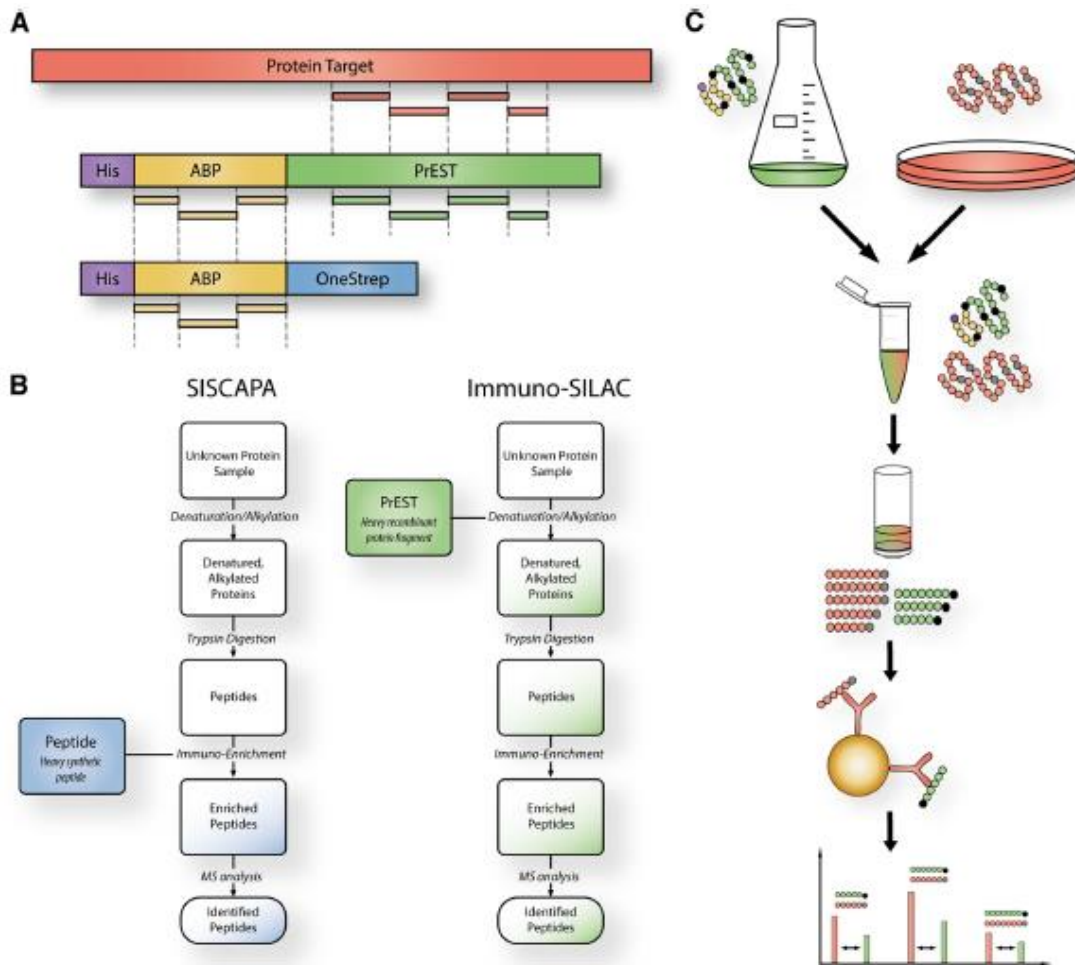


SISCAPA: Stable Isotope Standards and Capture by Anti-Peptide Antibodies

Immunoproteomics Using Polyclonal Antibodies and Stable Isotope-labeled Affinity-purified Recombinant Proteins*

Fredrik Edfors¹§, Tove Boström¹¶, Björn Forsström²¶, Marlis Zeller¹¶, Henrik Johansson³**, Emma Lundberg⁴‡, Sophia Hober¹¶, Janne Lehti⁵**, Matthias Mann¹¶, and Mathias Uhlen¹¶¶

Molecular & Cellular Proteomics





Conclusion

Identification de biomarqueurs

Omiques

Fiabiliser

Mieux partager

Intégrer les données

Analyses *in situ*

Single cell technologies

validation de
biomarqueurs

ETAPE CRUCIALE

Analyses quantitatives

multiplexées

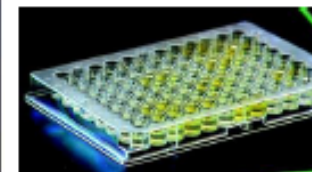
(métabolites/protéines)

Cohortes++

Diagnostic rapide/de
précision

Tests connectés...

Augmenter la sensibilité les tests





Merci pour votre attention et merci à :

Stéphanie Simon

Eric Ezan

Peggy Baudouin-Cornu

François Berger

Marie-Thérèse Ménager

Ines Amado

Hervé Watier