

Analyse phosphoprotéomique pour la recherche de biomarqueurs: développements et applications.



Luc NEGRONI
CGFB/CBMN, Equipe J.-M. Schmitter

L'analyse protéomique est une méthode de choix pour la recherche de biomarqueurs. Sans à priori, elle permet d'établir un catalogue de protéines qui sont exprimées dans une cellule, un tissu ou un organisme entier. Cette approche a été mise en œuvre pour une analyse protéomique de cellules coliques cancéreuses et une analyse phosphoprotéomique de biopsies hépatiques.

L'étude de cellules coliques cancéreuses transformées par le gène cytosine désaminase et traitées par la prodrogue 5-fluorocytosine a été réalisée par électrophorèse bidimensionnelle des extraits protéiques. L'analyse d'image a permis la quantification de 353 protéines et isoformes dont 14 sont surexprimées et 4 sous exprimées lors d'un traitement par la prodrogue. Parmi les protéines dont l'expression est affectée par le traitement, l'HSP90 présente un niveau d'expression constant mais est identifiée sous deux formes qui diffèrent par leur pI. L'analyse par spectrométrie de masse a permis d'identifier une phosphorylation de ser 254 qui pourrait contribuer à la régression tumorale.

Après avoir développé une méthode HPLC-TiO₂ pour la purification de phosphopeptides, une analyse protéomique de 24 biopsies humaines provenant de carcinomes hépatocellulaires sur foie non fibreux (nf-CHC) et de tissus sains a été réalisée avec la technologie iTRAQ. Les peptides surexprimés dans les tumeurs correspondent à des protéines de choc thermique, des protéines liées à l'ADN/ARN (histones, protéines du spliceosome), des protéines de la phase I de la détoxification (carboxyestérase, époxide hydrolase), les protéines du cytosquelette (actinine, tubuline), des protéines ou enzymes anti-oxydantes (superoxide dismutase, thiorédoxine). Les peptides sous-exprimés correspondent à des protéines du cycle de l'urée, de la détoxification

(alcool déshydrogénase) du métabolisme des sucres, des lipides et des acides aminés. Dans la fraction TiO_2 , 19 phosphopeptides sont significativement surexprimés et 15 phosphopeptides sont significativement sous exprimés, mettant en évidence une surreprésentation du motif -(S/T)P- parmi les phosphopeptides surexprimés dans les tumeurs. Une activation des *proline directed kinases* ou une inhibition des phosphatases correspondantes est donc probablement un événement caractéristique des nf-CHC. Ces peptides/protéines dérégulées sont autant de biomarqueurs potentiels pour le carcinome hépatocellulaire