

# Explorer la dynamique des protéomes avec le laboratoire EDyP

**Le laboratoire EDyP, basé à Grenoble, est une référence en protéomique. Il combine des expertises avancées en biologie, biochimie, sciences analytiques (notamment la spectrométrie de masse) et analyses computationnelles pour explorer en profondeur les protéines, leurs dynamiques, leurs interactions et leurs modifications. Sa plateforme de services, ouverte aussi bien aux communautés académiques qu'industrielles, offre un large éventail de prestations allant de l'identification protéique à la quantification de biomarqueurs. Le laboratoire EDyP est membre fondateur de l'Infrastructure Nationale de Protéomique ProFI.**

Les protéines, acteurs moléculaires essentiels du vivant, doivent être caractérisées, notamment pour mieux en comprendre les mécanismes fondamentaux. Un challenge majeur réside dans la complexité des protéomes (ensemble des protéines exprimées par un système biologique). Chez l'humain, des dizaines de millions de formes protéiques coexistent, avec des abondances allant de quelques copies à plusieurs milliards.

Au cœur de cette exploration, le spectromètre de masse permet de mesurer le rapport masse sur charge d'ions avec une précision au niveau du millième de Dalton et des vitesses d'analyse toujours plus rapides sur les instruments de dernière génération. L'enjeu est de taille, il consiste à identifier, quantifier et caractériser un maximum de protéines dans des échantillons très complexes, afin de repérer celles dont l'abondance varie selon un état physiologique ou pathologique donné. C'est précisément la mission que le laboratoire EDyP (Exploring The Dynamics of Proteomes) s'attache à relever.

## De la protéine au peptide – du peptide à la protéine

Pour analyser un échantillon biologique, le laboratoire EDyP, expert en analyse protéomique à grande échelle base ses analyses sur la caractérisation de peptides issus de la digestion des protéines. La préparation des échantillons suit un protocole biochimique rigoureux incluant l'extraction des protéines des échantillons biologiques, la réduction des ponts disulfures, le blocage des cystéines, pour finir par l'étape de digestion enzymatique.

Depuis plus de 15 ans, au sein de l'équipe EDyP, cette étape est automatisée pour garantir reproductibilité et haut débit. Un premier robot gère les préparations issues de gel SDS-PAGE en plaques 96 puits, tandis qu'un second, offre une plus grande flexibilité pour le développement de protocoles en incluant notamment un lit magnétique, un lecteur de fluorescence et une centrifugeuse. Une fois préparés sous forme de peptides, les échantillons peuvent être séchés et stockés au congélateur avant analyse.

Les peptides sont ensuite séparés en fonction de leur hydrophobicité par chromatographie liquide à haute performance en phase inverse. Cette étape est essentielle pour décomplexifier l'échantillon à analyser par le spectromètre de masse, évitant que les peptides les moins abondants ne soient masqués par les plus présents.

À la sortie de la colonne de chromatographie, les peptides sont ionisés et introduits dans le spectromètre de masse sous vide poussé, qui mesure le rapport masse/charge avec une très grande précision. L'identification des peptides repose sur les spectres MS/MS issus de leur fragmentation : les peptides d'intérêt sont isolés et fragmentés, puis l'analyse des fragments obtenus permet de reconstruire leurs séquences en acides aminés.

L'interprétation des données acquises est réalisée à l'aide de logiciels spécifiques, certains développés au sein de l'équipe EDyP. Ils permettent l'identification des peptides et l'extraction de leur abondance mesurée. La comparaison des spectres expérimentaux et de spectres théoriques issus de la digestion in-silico >>>

du protéome étudié permet alors de déterminer l'identité des peptides présents dans les échantillons analysés. Les peptides identifiés sont alors regroupés en protéines en fonction des séquences théoriques connues des protéines. Pour ces étapes, des stratégies statistiques sont indispensables pour contrôler les taux de faux-positifs. L'usage de l'intelligence artificielle repose sur une adaptation rigoureuse des concepts mathématiques et statistiques au contexte spécifique de la protéomique et des méthodes sont développées sur mesure. Cette approche intégrée garantit que l'innovation instrumentale s'accompagne toujours d'un progrès méthodologique, où biologie, sciences analytiques et sciences des données se renforcent mutuellement.

À l'issue de l'expérimentation, une liste de protéines avec leurs abondances dans chaque échantillon est fournie, permettant une analyse statistique des données quantitatives et de définir lesquelles sont différenciellement exprimées en fonction des conditions testées.

**Innovation protéomique au service de la santé pulmonaire**

Avant tout un laboratoire alliant recherche méthodologique et recherche en santé, l'un des axes majeurs d'EDyP se concentre sur la compréhension des mécanismes moléculaires impliqués dans le développement de la fibrose pulmonaire idiopathique (FPI). Cette pathologie se caractérise par une fibrose progressive du tissu pulmonaire, conduisant à une insuffisance respiratoire chronique, sans traitement curatif actuellement disponible. Le diagnostic repose sur l'imagerie et l'histologie, souvent après une longue période d'errance diagnostique, faute de marqueurs circulants fiables.

Le laboratoire poursuit ainsi deux objectifs principaux :

- 1) découvrir des acteurs moléculaires susceptibles de devenir des cibles thérapeutiques, en modulant certaines voies de signalisation impliquées dans la maladie,
- 2) identifier des biomarqueurs pour améliorer le diagnostic, le suivi et le pronostic de la FPI.

Pour étudier cette pathologie, l'équipe dispose, entre autres, de modèles de cellules alvéolaires pulmonaires en culture. Une attention particulière est portée à l'hypoxie, facteur environnemental suspecté, et étudié au laboratoire grâce à une station dédiée permettant d'exposer les cellules à de faibles concentrations en oxygène. La comparaison des protéomes en conditions normales versus hypoxiques permet d'identifier les protéines dont l'abondance varie en réponse à ce stress.

Afin de capturer l'hétérogénéité des réponses cellulaires, l'équipe EDyP développe l'analyse protéomique à l'échelle de la cellule unique, une approche représentant un défi technologique majeur. Chaque cellule ne contient en effet que quelques dizaines de picogrammes de protéines, ce qui nécessite une isolation ultra-précise, une préparation adaptée à l'échelle ultra-trace, des spectromètres de masse hypersensibles, ainsi que des algorithmes capables de traiter des signaux très faibles et de larges volumes de données.

À ce jour, EDyP est capable d'identifier jusqu'à 5000 protéines par cellule unique, un chiffre impressionnant mais encore limité au vu de la complexité des protéomes étudiés. La FPI constitue ainsi une thématique passionnante médicalement et exigeante technologiquement, poussant le laboratoire à repousser sans cesse les limites des analyses protéomiques basées sur la spectrométrie de masse et de la science des données.

**Une plateforme ouverte à la communauté scientifique**

Pour partager son expertise, le laboratoire EDyP fonctionne également comme une plateforme technologique ouverte aux laboratoires externes pour leurs projets de protéomique. Après discussion et validation de la question scientifique adressée et de la qualité des échantillons préparés, l'équipe prend en charge l'ensemble du processus : digestion enzymatique, acquisition sur spectromètre de masse, analyse informatique et statistique des données et restitution de résultats interprétés.

Pour rester à la pointe de la technologie, le laboratoire renouvelle régulièrement ses équipements. Aujourd'hui, EDyP dispose d'un parc complet et performant composé de six instruments : quatre couplages chromatographie liquide haute performance - spectromètre de masse et deux robots préparateurs d'échantillons.



Couplage nanochromatographie liquide et spectromètre de masse (système UHPLC Vanquish Neo et Orbitrap Ascend Tribrid, Thermo Fisher Scientific) - © EDyP

**Pour en savoir plus :**

**EDyP :** [www.edyp.fr/web/](http://www.edyp.fr/web/)  
**Yohann Couté** - [yohann.coute@cea.fr](mailto:yohann.coute@cea.fr)  
**Christophe Bruley** - [christophe.bruley@cea.fr](mailto:christophe.bruley@cea.fr)  
**Emilie Boncoeur** - [emilie.boncoeur@cea.fr](mailto:emilie.boncoeur@cea.fr)

**J S. Lopes**  
© La Gazette du Laboratoire



**TOCnology**  
**faite pour vous.**

**UWWTD: passez au TOC avec confiance**  
**Découvrez la série multi N/C x300**

- Résultats rapides et fiables, en conformité avec la UWWTD
- Analyse robuste, même pour les matrices complexes et chargées
- Conformité aux normes actuelles, dont DIN EN ISO 20236
- Utilisation intuitive pour optimiser vos routines en laboratoire



[www.analytik-jena.com](http://www.analytik-jena.com)

**analytikjena**  
An Endress+Hauser Company