



par Bertrand JORDAN

## La biologie moléculaire à l'ère des robots

Les « petites mains » du génie génétique.  
Nécessité de l'automatisation. Robotiser, un pari risqué !  
Repenser les méthodes, une nécessité.  
Les exemples de LABIMAP et de l'EMBL.

Une des premières surprises qui attend un néophyte visitant un laboratoire de génie génétique est de voir à quel point il s'agit d'un travail manuel. Certes il y a bien quelques machines : ultracentrifugeuses, systèmes d'électrophorèse un peu sophistiqués, « machines » à PCR... Si le standing du laboratoire est très élevé, on pourra peut-être contempler un « séquenceur » d'ADN, souvent inutilisé d'ailleurs. Mais l'observateur verra surtout une multitude de personnes se livrant à des tâches qui ne paraissent pas *a priori* relever d'une haute technicité : l'un capuchonne soigneusement de petits tubes en plastique puis les installe au chaud dans un support bricolé à l'aide de vieux morceaux de polystyrène ; l'autre agite consciencieusement quelque chose qui ressemble à un morceau de papier blanc dans une boîte *Tupperware* remplie d'un liquide chaud et mousseux ; la dernière enfin, assise devant une boîte lumineuse, scrute un film radio couvert de pattes de mouche et remplit une feuille de papier de signes cabalistiques. On aura reconnu, dans l'ordre : une incubation, le lavage d'un *blot* et le déchiffrement d'une séquence ; et il est vrai que, dans la quasi-totalité des laboratoires, ces opérations se font de façon entièrement manuelle, les machines — servies par l'homme — n'intervenant

que ponctuellement et pour une tâche bien spécifique. Un travail manuel donc, répétitif, parfois abrutissant et non dépourvu d'erreurs. Un travail critique aussi où l'inattention ou le non-respect de conditions très strictes à certains moments peuvent mettre en cause toute la « manip » et conduire à des résultats ininterprétables.

Il semble donc évident qu'il faut automatiser. A l'ère des microprocesseurs et de la robotique, quoi de plus simple, apparemment, que de remplacer le personnel souvent surqualifié qui effectue ces tâches manuelles (il n'est pas rare de voir un directeur de recherche consacrer sa matinée à pipeter des microlitres dans des dizaines de tubes...) par des automates précis, rigoureux, fiables et surtout infatigables ? Que cette robotisation ait à peine commencé montre bien que le problème n'est pas simple. Il y a à cela de bonnes et de mauvaises raisons.

Commençons par les mauvaises. Contrairement à ce que l'on pourrait penser, le milieu de la recherche biologique est, dans l'ensemble, un milieu extrêmement conservateur. On n'aime pas changer de méthodes et on ne le fait que poussé par la concurrence. Il est difficile, par exemple, d'interpréter autrement l'extrême lenteur de la diffusion des techniques de sondes d'ADN marquées de façon

non radioactive (« sondes froides »), qui ont pourtant des performances satisfaisantes dans la grande majorité des cas et présentent de multiples avantages : mais chacun est habitué depuis longtemps à l'utilisation du phosphore 32 et résiste au changement d'habitudes bien ancrées. (On peut remarquer d'ailleurs que, même pour communiquer, les chercheurs restent très traditionalistes : il est tout de même paradoxal que la recherche de pointe, où l'on monte au créneau de l'inconnu, ne communique pour l'essentiel que par le texte classique, l'ouvrage soigneusement composé, imprimé et broché comme du temps de Gutenberg). Une autre mauvaise raison est le manque de formation en technologie et en physique de base de la plupart des biologistes, en France en tous cas : le changement d'un fusible, l'utilisation d'un multimètre, le maniement de la loi d'Ohm semblent poser des problèmes à beaucoup de chercheurs pourtant qualifiés. Alors, bien sûr, le dialogue avec un ingénieur en robotique est difficile... Toujours en France, le manque d'interlocuteurs sérieux est aussi un problème : le marché de l'instrumentation de laboratoire est couvert pour l'essentiel par l'étranger (Etats-Unis, Angleterre, Suède, RFA...) et trouver un interlocuteur français à la fois sérieux et réellement intéressé au

développement d'un produit dans ce domaine tient de la gageure.

Il y a tout de même de bonnes raisons à ce retard. La principale sans doute est que les techniques du génie génétique sont encore en évolution rapide. Compte tenu des délais nécessaires au développement puis à la mise sur le marché d'un automate spécialisé, le risque que celui-ci soit obsolète au moment de son introduction est réel. La montée en puissance des méthodes utilisant l'amplification enzymatique (PCR) en est un bon exemple ; l'amplification court-circuite toute une série d'étapes et change complètement l'ordre de grandeur de la sensibilité nécessaire dans de nombreuses applications, puisque la région à examiner peut maintenant être amplifiée spécifiquement un million de fois au préalable. Un autre exemple dans le domaine du séquençage de l'ADN est celui de la méthode de dégradation chimique (dite de Maxam et Gilbert), historiquement très importante mais maintenant détrônée par les méthodes enzymatiques (dérivées de celle de Coulson et Sanger) sauf dans des cas très particuliers. Deux robots ont été successivement développés au Japon pour automatiser cette méthode, l'un vers 1983 et l'autre en 1986 par la compagnie Seiko : il ne semble pourtant pas qu'il y ait actuellement un marché pour de telles machines. Ceci d'autant plus que la variante de la méthode de Maxam et Gilbert choisie par les concepteurs était la technique en phase liquide, très lourde à automatiser (elle impose par exemple plusieurs centrifugations) et non la méthode sur support solide, plus récente et sûrement mieux automatisable. Le prix annoncé par Seiko (300 000 dollars US en 1986, pour une machine qui effectue uniquement les réactions chimiques) était d'ailleurs assez dissuasif...

**Robotiser, c'est donc un pari risqué,** avec le danger d'aboutir à un appareil dépassé par l'évolution des techniques ou simplement trop cher pour les laboratoires de biologie où un appareil de 500 KF est déjà considéré comme du gros matériel (l'échelle n'est pas la même que pour nos collègues physiciens...). Il semble important de ne pas se limiter à une simple robotisation des techni-

ques manuelles existantes, mais au contraire d'examiner tout le processus considéré pour voir s'il ne peut pas être mieux effectué, à la machine, par une autre méthode : de même que l'industrie des *chips* ne pèle pas ses pommes de terre avec un épluche-légumes commandé par ordinateur couplé à un analyseur d'images, mais par un système de tambour rotatif à parois rugueuses. Tout cela suppose une bonne connexion entre recherche et industrie, une veille technologique à jour, des interlocuteurs motivés et efficaces, et une entreprise qui ait les reins solides pour tenir la distance.

Un bon exemple de ce type d'approche est celui mené actuellement dans le cadre d'un programme européen EUREKA (prise en charge par la CEE de 50 % des frais) : LABIMAP 2001 qui associe deux laboratoires, *Imperial Cancer Research Fund* (ICRF) à Londres et le Centre d'étude du polymorphisme humain (CEPH) à Paris, et deux industriels, Amersham PLC à Cardiff et Bertin à Paris. Il s'agit de développer une « ligne » d'automates effectuant différentes opérations de biologie moléculaire, comme par exemple une machine à faire des *Southern* qui prend l'opération en charge à partir de l'ADN et de l'enzyme et délivre des *blots* prêts à hybrider. Des moyens importants ont été investis et ont permis la construction de plusieurs prototypes ; le succès commercial n'est néanmoins, bien sûr, pas garanti.

Pour rester en Europe, un autre effort de développement intégré est celui mené au laboratoire européen de biologie moléculaire (EMBL) à Heidelberg (RFA) par le groupe de Wilhelm Ansorge. Cette équipe a développé un séquenceur d'ADN original (plus simple et sans doute plus fiable que les machines Applied Biosystems ou Dupont), maintenant commercialisé par LKB, et s'attache à automatiser des opérations en amont. En effet les appareils que l'on appelle « séquenceurs d'ADN » ne prennent en charge que l'électrophorèse des mélanges réactionnels préparés à partir de l'ADN cloné et l'enregistrement des résultats de cette électrophorèse. Il reste donc un lourd travail manuel en amont, et de plus ces appareils sont très exigeants sur

la qualité de ce qu'on leur donne à séquencer (ce qui explique que l'on voit plus de séquenceurs à l'arrêt qu'en fonctionnement...) : il s'agit donc d'un domaine à robotiser en priorité. Cette automatisation, à Heidelberg comme ailleurs, se fait beaucoup à partir de robots du commerce conçus pour effectuer des opérations multiples en parallèle sur des plaques à microtitration (Gilson, Beckman Biomek...). Ces robots modifiés, munis d'accessoires chauffants ou refroidissants, avec des programmes spécialement développés, deviennent de plus en plus performants, surtout dans le type d'opération maintenant bien codifié qu'est le séquençage de l'ADN. Et quand une étape est robotisée, la pression pour automatiser la précédente ou la suivante augmente...

Ainsi, petit à petit, les opérations de laboratoire manuelles et répétitives sont prises en charge par des machines. L'évolution reste lente, très en retard, par exemple, sur celle des laboratoires d'analyse médicale — qui travaillait avec des méthodes mieux stabilisées —, freinée à la fois par l'importance des investissements nécessaires, le manque de culture technologique, et aussi une certaine idéologie du milieu : je me souviens encore d'une publicité pour un collecteur de fractions qui paraissait dans *Journal of Biochemical Chemistry* vers la fin des années 1970 et dont l'accroche était : « *Even a graduate student's time is worth saving...* » Il était en effet courant, à l'époque, de récolter les fractions d'une colonne de chromatographie en déplaçant à la main un portoir de tubes sous cette dernière, en comptant les gouttes et en déplaçant le portoir au bon moment. Le but de l'annonce était donc de faire passer l'idée que, peut-être, l'achat d'un collecteur permettait de libérer le thésard pour des tâches plus utiles.

Je ne suis pas sûr que cette pratique ait totalement disparu. ■

### Bertrand Jordan

Directeur de recherche au Cnrs, responsable du groupe « génétique moléculaire humaine », CIML, Inserm/Cnrs, case 906, 13288 Marseille Cedex 9, France.