

Les **biotechnologies en santé**

**Tome 1**

# **Introduction aux biotechnologies en santé**

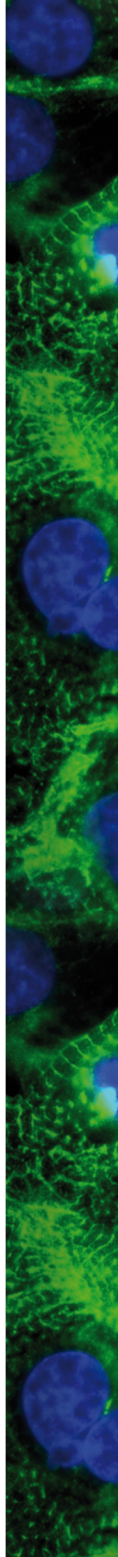
**Sandrine Bourgoïn-Voillard**

**Walid Rachidi**

**Michel Seve**



**L***avoisier*  
**TEC & DOC**



### **Chez Lavoisier Tec&Doc :**

Culture de cellules animales, par G. Barlovatz-Meimon et X. Ronot  
Cycle cellulaire et cytométrie en flux, par D. Grunwald, J.-F. Mayol et X. Ronot  
La cytométrie en flux, par X. Ronot, D. Grunwald, J.-F. Mayol et J. Boutonnat  
L'évolution biologique au XXI<sup>e</sup> siècle : Les faits, les théories, par R. Dajoz  
Biologie de l'évolution et médecine (Coll. Monographies), par C. Frelin et B. Swynghedauw  
Labo-Stat : Guide de validation des méthodes d'analyse, par M. Feinberg  
La brevetabilité des innovations biotechnologiques appliquées à l'Homme, par M.-C. Chemtob-Concé

### **Chez Lavoisier Médecine Sciences :**

Atlas de poche de biotechnologie et de génie génétique (Coll. Atlas de poche), par R. D. Schmid  
Biologie moléculaire de la cellule, par B. Alberts, A. Johnson, J. Lewis, M. Raff, K. Roberts et P. Walter  
Biologie moléculaire de la cellule – Livre d'exercices, par J. Wilson et T. Hunt  
L'essentiel de la biologie cellulaire, par B. Alberts, D. Bray, K. Hopkin, A. Johnson, J. Lewis, M. Raff, K. Roberts et P. Walter  
Immunologie, par L. Chatenoud et J.-F. Bach  
Manuel de poche de biologie cellulaire, par H. Plattner et J. Hentschel  
Biologie moléculaire et médecine, par J.-C. Kaplan et M. Delpech  
Appareils et méthodes en biochimie et biologie moléculaire, par B. Hainque, B. Baudin et P. Lefebvre  
Biochimie et biologie moléculaire, par P. Kamoun, A. Lavoinnie et H. de Verneuil

### **Dans d'autres collections :**

Les biosimilaires, par J.-L. Prugnaud et J.-H. Trouvin  
Bio-informatique moléculaire : une approche algorithmique (Coll. IRIS), par P. A. Pevzner et N. Puech

Les biotechnologies en santé

Tome 1

**Introduction**  
**aux**  
**biotechnologies en santé**

Sandrine BOURGOIN-VOILLARD  
Walid RACHIDI  
Michel SEVE

*Préface de Pierre Tambourin*

  
**TEC & DOC**  
editions.lavoisier.fr

Les déclarations de conflits d'intérêts sont consultables chez l'éditeur.

*Direction éditoriale* : Fabienne Roulleaux

*Édition* : Brigitte Peyrot

*Fabrication* : Estelle Perez-Le Du

*Composition et couverture* : Patrick Leleux PAO, Caen

© 2016, Lavoisier, Paris

ISBN : 978-2-7430-2085-9

## **LISTE DES COLLABORATEURS**

- ALDEBERT Delphine, Maître de Conférences, UFR de Pharmacie, Université Grenoble Alpes, Grenoble.
- ARAFAH Karim, Chef de Projets, BioPark d'Archamps, Archamps.
- AUXENFANS Céline, Praticien Hospitalier, Laboratoire des Substituts cutanés, Hospices Civils de Lyon, Lyon.
- BOISSET Sandrine, Maître de Conférences - Praticien Hospitalier, Laboratoire de Bactériologie, CHU de Grenoble, Université Grenoble Alpes, Grenoble.
- BOURGOIN-VOILLARD Sandrine, Maître de Conférences, Plateforme de Protéomique Prométhée, Université Grenoble Alpes, Grenoble.
- BRAULT Julie, Assistant Hospitalo-Universitaire, Laboratoire Biochimie, Enzymes et Protéines, CHU de Grenoble, Université Grenoble Alpes, Grenoble.
- BRAYE Fabienne, Praticien Hospitalier, Service de Chirurgie plastique, esthétique et reconstructrice, Hospices Civils de Lyon, Lyon.
- BRETON Jean, Maître de Conférences, UFR de Pharmacie, Université Grenoble Alpes, Grenoble.
- BULET Philippe, Directeur de Recherche, UJF – IAB U823 Inserm – CNRS, Archamps.
- BUSSER Benoît, Maître de Conférences - Praticien Hospitalier, Service Biochimie des cancers et Biothérapies, CHU de Grenoble, Université Grenoble Alpes, Grenoble.
- CASPAR Yvan, Assistant Hospitalo-Universitaire, Laboratoire de Bactériologie, Université Grenoble Alpes, Grenoble.
- CATHERINE David, Professeur Assistant, Département Management, Technologies et Stratégie, Grenoble École de Management, Grenoble.
- CAVAILLÈS Pierre, Maître de Conférences, Laboratoire TIMC-IMAG, Université Grenoble Alpes, Grenoble.
- CHAUCHET Xavier, Doctorant, Laboratoire TIMC-IMAG, Université Grenoble Alpes, Grenoble.
- CLAVARINO Giovanna, Assistant Hospitalo-Universitaire, Laboratoire d'Immunologie, CHU de Grenoble, Université Grenoble Alpes, Grenoble.
- DAMOUR Odile, Praticien Hospitalier, Laboratoire des Substituts cutanés, Hospices Civils de Lyon, Lyon.
- DE FRAIPONT Florence, Praticien Hospitalier, Département de Biochimie, Toxicologie et Pharmacologie, CHU de Grenoble, Grenoble.
- DEMEILLIERS Christine, Maître de Conférences, Laboratoire de Bioénergétique fondamentale et appliquée, Inserm U1055, Université Grenoble Alpes, Grenoble.
- DE MEULDER Bertrand, Chercheur, European Institute for Systems Biology and Medicine (EISBM, CNRS-ENS-UCBL), Lyon.
- DROUET Emmanuel, Professeur des Universités, Unit of Virus host cell interactions, Faculté de Pharmacie, Université Grenoble Alpes, Grenoble.
- DUMESTRE-PÉRARD Chantal, Maître de Conférences - Praticien Hospitalier, Laboratoire d'Immunologie, CHU de Grenoble, Université Grenoble Alpes, Grenoble.
- DURMORT Claire, Maître de Conférences, Groupe Pneumocoque, Institut de Biologie structurale, Université Grenoble Alpes, Grenoble.
- FAURÉ Julien, Maître de Conférences – Praticien Hospitalier, Laboratoire Biochimie génétique et moléculaire, Plateforme de Biologie moléculaire, IBP/DBTP/BGM, CHU de Grenoble.
- FAURE Patrice, Professeur des Universités - Praticien Hospitalier, Service de Biologie, CHU de Grenoble, Université Grenoble Alpes, Grenoble.
- FAVIER Bertrand, Maître de Conférences, Laboratoire GREPI, Université Grenoble Alpes, Grenoble.

FONROSE Xavier, Praticien Hospitalier, Département de Biochimie, Toxicologie et Pharmacologie, Hôpital A. Michallon, Grenoble.

GASPARUTTO Didier, Directeur de Recherche, Institut des Nanosciences et Cryogénie (INAC), Commissariat à l'Énergie Atomique et aux Énergies Alternatives, Grenoble.

GEISELMANN Johannes, Professeur des Universités, Laboratoire interdisciplinaire de Physique, CNRS et Université Grenoble Alpes, Grenoble.

GENET Corine, Professeur Associé, Département Management, Technologies et Stratégie, Grenoble École de Management, Grenoble.

GILSON Pauline, Interne en Pharmacie, Doctorante, Service Biochimie des cancers et Biothérapie, CHU de Grenoble, Grenoble.

KARAGEORGIS Anastassia, Chercheur, Inserm U823, Équipe Thérapie ciblée, Diagnostic précoce et Imagerie du cancer, Institut Albert Bonniot, Université Grenoble Alpes, Grenoble.

LAMIRAULT Guillaume, Maître de Conférences - Praticien Hospitalier, Institut du Thorax, CHU de Nantes, Université de Nantes.

LE GOUËLLEC Audrey, Chef de Clinique – Assistant hospitalo-universitaire, Laboratoire TIMC-IMAG/TheRex UMR 5525, Faculté de Médecine de Grenoble.

LEHMANN Sylvia, Enseignante-Chercheuse, Institut des Sciences de la Terre, Université Grenoble Alpes, Grenoble.

LE LOARNE-LEMAIRE Séverine, Professeur Associé, Département Management, Technologies et Stratégie, Grenoble École de Management, Grenoble.

LENORMAND Jean-Luc, Professeur des Universités, Laboratoire TIMC-IMAG/TheRex, Université Grenoble Alpes, Grenoble.

MAURIN Max, Professeur des Universités - Praticien Hospitalier, Laboratoire de Bactériologie et Hygiène hospitalière, CHU de Grenoble, Université Grenoble Alpes, Grenoble.

PELLET Johann, Ingénieur, European Institute for Systems Biology and Medicine (EISBM, CNRS-ENS-UCBL), Lyon.

PÉREZ Serge, Directeur de Recherche émérite, CNRS, Département de Pharmacochimie moléculaire, UMR CNRS-UGA, Grenoble.

PISON Christophe, Professeur des Universités - Praticien Hospitalier, Clinique universitaire de Pneumologie, Pôle Thorax et Vaisseaux, CHU de Grenoble, Université Grenoble Alpes, Grenoble.

PREYNAT-SEAUVE Olivier, Biologiste, Laboratoire d'Immunohématologie transfusionnelle, Hôpitaux Universitaires de Genève, Suisse.

PRIEM Bernard, Maître de Conférences, Service Chimie et Biotechnologie des Oligosaccharides, CERMAV CNRS UPR 5301, Université Grenoble Alpes, Grenoble.

RACHIDI Walid, Maître de Conférences, Laboratoire Lésions des Acides nucléiques, Université Grenoble Alpes et CEA, Grenoble.

RENDU John, Praticien Hospitalier, Département de Biochimie, Toxicologie et Pharmacologie, CHU de Grenoble, Université Grenoble Alpes, Grenoble.

ROPER Delphine, Docteur, INRIA, Équipe Projet Ibis, Université Grenoble Alpes, Grenoble.

SABATIER Philippe, Professeur des Universités, Laboratoire TIMC-IMAG, Université Grenoble Alpes, Grenoble.

SABATIER Valérie, Professeur Associé, Département Management, Technologies et Stratégie, Grenoble École de Management, Grenoble.

SEVE Michel, Professeur des Universités - Praticien Hospitalier, Plateforme de Protéomique Prométhée, Laboratoire de Bioénergétique fondamentale et appliquée, U1055, UFR de Pharmacie, CHU de Grenoble et Université Grenoble Alpes, Grenoble.

SODOYER Régis, Ingénieur de Recherche, Institut de Recherche technologique Bioaster, Lyon.

STASIA Marie-José, Maître de Conférences - Praticien Hospitalier, Laboratoire Biochimie, Enzymes et Protéines, CHU de Grenoble, Laboratoire TIMC-IMAG, Université Grenoble Alpes, Grenoble.

SUTERA Vivien, Ingénieur Hospitalier, Laboratoire de Bactériologie, CHU de Grenoble.

THÉODOSIOU Maria, Chargée de cours, Département Management, Technologies et Stratégie, Grenoble École de Management, Grenoble.

TOUSSAINT Bertrand, Professeur des Universités - Praticien Hospitalier, Département de Biochimie, Pharmacologie et Toxicologie, CHU de Grenoble, Université Grenoble Alpes, Grenoble.

TROUILLER Patrice, Professeur Associé - Praticien Hospitalier, UFR de Pharmacie, Université Grenoble Alpes, Grenoble.

WALDVOGEL-ABRAMOWSKI Sophie, Médecin adjointe, Laboratoire d'Immunohématologie transfusionnelle, Hôpitaux Universitaires de Genève, Suisse.

WERLE Bettina, Ingénieur de Recherche, Institut de Recherche technologique Bioaster, Lyon.





# Sommaire

<b>Préface</b>	P. TAMBOURIN .....	XV
<b>Avant-propos</b>	S. BOURGOIN-VOILLARD, W. RACHIDI, M. SEVE .....	XIX
<b>Remerciements</b>	S. BOURGOIN-VOILLARD, W. RACHIDI, M. SEVE .....	XX
<b>Chapitre 1. La grande aventure scientifique, technologique et humaine des biotechnologies pour la santé</b>	B. TOUSSAINT, P. TROUILLER (coordonnateur : B. Toussaint) .....	1
Préambule .....		1
Les biotechnologies : des pratiques anciennes aux applications d'aujourd'hui .....		2
Définitions et domaines d'application des biotechnologies .....		2
Développement des biotechnologies .....		3
Une brève histoire des biotechnologies pour la santé .....		5
La découverte du support de l'information génétique .....		5
La révolution du « génie génétique » .....		5
Naissance de l'industrie des biotechnologies .....		8
Importance de la pluridisciplinarité et choix en formations .....		8
Les enjeux de la pluridisciplinarité .....		8
Possibilités en formation initiale des étudiants .....		9
Notions de bioéthique appliquées aux biotechnologies de la santé .....		10
Influences prévisibles des biotechnologies de la santé sur la société et l'homme .....		10
Genèse de la réflexion sur l'éthique des sciences et techniques appliquées au vivant .....		11
Définition de la bioéthique .....		12
<b>Chapitre 2. Bioinformatique et biologie computationnelle</b>	B. DE MEULDER, J. PELLET, P. SABATIER, M. SEVE (coordonnateur : M. Seve) .....	15
Définition et historique de la bioinformatique .....		15
Analyse de séquences .....		16
Banques de données moléculaires .....		16
Prédiction de structures protéiques .....		17
Évolution moléculaire .....		17
Identification des problèmes à résoudre par la bioinformatique .....		18
La donnée, un défi pour la bioinformatique .....		19
Croissance exponentielle des données .....		19
Qualité des données .....		20
Les différents types de données .....		21

Concepts et méthodes .....	24
Alignement de séquences .....	24
Description des données .....	25
Apprentissage statistique .....	29
Modélisation des mécanismes .....	32
Éléments de réponse et perspectives .....	34
Cloud computing .....	34
Vers une démarche itérative .....	35
Biologie des systèmes .....	35

<b>Chapitre 3. De la transgène au clonage</b> J. BRAULT, P. CAVAILLÈS, C. DURMORT, B. FAVIER, W. RACHIDI, M.-J. STASIA (coordonnateur : C. Durmont) .....	38
Biotechnologies de la reproduction .....	38
Embryologie et différenciation cellulaire .....	39
Insémination artificielle .....	40
Transfert d'embryons .....	41
Fécondation <i>in vitro</i> .....	42
Cellules souches embryonnaires .....	42
Transfert de gènes .....	42
Définition .....	42
Méthodes de transfert de gènes .....	42
Animaux transgéniques .....	44
Introduction .....	44
Transgène additionnelle .....	44
<i>Knock-Out</i> (KO) ou <i>Knock-In</i> (KI) .....	46
KO conditionnels .....	48
Conclusion .....	50
Clonage reproductif et thérapeutique .....	50
Technique d'obtention de clones animaux .....	50
Objectifs du clonage animal .....	52
Clonage thérapeutique .....	53
Méthodes d'obtention de cellules souches pluripotentes .....	55
Reprogrammation nucléaire avec ovocyte .....	55
Reprogrammation cellulaire sans ovocyte .....	55
Technologie de reprogrammation .....	56
Processus séquentiel de la reprogrammation .....	56
Applications des cellules iPS .....	57
Thérapie génique .....	57
Historique .....	57
Modalités .....	60
Vecteurs utilisés en thérapie génique .....	60
Avancées thérapeutiques .....	62
Enjeux éthiques .....	62
Expérimentation animale .....	63
La directive EU2010/63 .....	63
Points particuliers soulevés par la transgène et le clonage animal .....	64
Quel impact environnemental ? .....	64
Diminuer les frontières entre l'homme et l'animal ? .....	65
Cellules souches humaines et définition de l'être humain .....	65
Dangers de la thérapie génique .....	66

<b>Chapitre 4. La cellule procaryote en biotechnologies</b>	S. BOURGOIN-VOILLARD, C. DURMORT, J. GEISELMANN, A. LE GOUËLLEC, D. ROPERS, M. SEVE (coordonnateurs : M. Seve, S. Bourgoïn-Voillard) . . . . .	69
La cellule procaryote : outil de recherche et usine de production biologique . . . . .		69
Historique . . . . .		69
Caractéristiques des cellules procaryotes . . . . .		69
Conditions de culture . . . . .		72
Transformation . . . . .		80
Espèces utilisées en biotechnologie . . . . .		82
Biologie synthétique . . . . .		83
Qu'est-ce que la biologie synthétique ? . . . . .		83
Phases de l'ingénierie . . . . .		83
Organismes châssis . . . . .		83
Niveaux d'organisation . . . . .		84
Modélisation mathématique . . . . .		84
Applications actuelles et nouveaux défis . . . . .		85
Compétition iGEM . . . . .		85
La cellule procaryote : outil thérapeutique . . . . .		86
Bactérie médicament . . . . .		86
Le microbiote et ses applications . . . . .		87
 <b>Chapitre 5. La cellule eucaryote en biotechnologies</b>	 C. AUXENFANS, J. BRAULT, F. BRAYE, X. CHAUCHET, O. DAMOUR, C. DURMORT, G. LAMIRAULT, A. LE GOUËLLEC, S. LEHMANN, O. PREYNAT-SEAUVE, W. RACHIDI, M.-J. STASIA, S WALDVOGEL-ABRAMOWSKI (coordonnateur : W. Rachidi) . . . . .	 90
La cellule eucaryote : outil de recherche et usine de production biologique . . . . .		90
Introduction à la culture cellulaire animale . . . . .		90
Modification de cellules . . . . .		94
Utilisation de la cellule animale en biotechnologies . . . . .		96
Échelles de culture pour la biotechnologie . . . . .		96
La cellule eucaryote : outil thérapeutique . . . . .		101
Principes et méthodologies des thérapies cellulaires régénératives . . . . .		103
Immunothérapie cellulaire . . . . .		109
 <b>Chapitre 6. Les biomolécules en biotechnologies</b>	 S. BOURGOIN-VOILLARD, J. BRETON, P. BULET, C. DEMEILLIERS, E. DROUET, C. DURMORT, D. GASPARUTTO, S. LEHMANN, J.-L. LENORMAND, S. PEREZ, B. PRIEM, W. RACHIDI, M. SEVE, R. SODOYER (coordonnateurs : S. Bourgoïn-Voillard, M. Seve) . . . . .	 114
Aspects réglementaires et éthiques . . . . .		116
Méthodes et principes généraux de production . . . . .		117
Vecteurs et stratégies de clonage . . . . .		117
Production des protéines dans un système acellulaire . . . . .		122
Production des protéines chez l'animal . . . . .		123
Conclusion . . . . .		125
Peptides et protéines . . . . .		125
Synthèse peptidique . . . . .		125
Peptides bioactifs . . . . .		125
Protéines solubles . . . . .		128
Protéines membranaires . . . . .		130
Anticorps . . . . .		131
Définitions des anticorps monoclonaux . . . . .		131
Technique d'obtention des anticorps monoclonaux murins par la méthode des hybridomes . . . . .		131
Utilisation des anticorps monoclonaux en thérapeutique humaine . . . . .		134

Les différents formats d'anticorps .....	139
Production d'anticorps monoclonaux.....	140
Anticorps thérapeutiques en clinique humaine .....	143
Acides nucléiques.....	146
Synthèse d'ADN par voie chimique .....	146
Extraction d'acides nucléiques .....	148
Oligo- et polysaccharides .....	150
Structure et production.....	150
Oligo- et polysaccharides à usage thérapeutique .....	153
Vectorisation et formulation .....	155
Problèmes et enjeux.....	155
Stabilité des protéines à usage thérapeutique.....	156
Fonctionnalisation des protéines recombinantes.....	157

<b>Chapitre 7. Les vaccins ou deux siècles de biotechnologies</b> E. DROUET, R. SODOYER, B. WERLE (coordonnateur : E. Drouet) .....	164
Historique ou le cheminement dans les méandres des découvertes vaccinales .....	165
L'époque héroïque (19 <sup>e</sup> siècle) .....	165
L'apothéose de la microbiologie au 20 <sup>e</sup> siècle et l'arrivée des cultures cellulaires.....	167
Les biotechnologies au service de la vaccination .....	168
Bases immunologiques de la vaccination .....	168
Cellules utilisées .....	171
Adjuvants, stimulateurs majeurs de l'immunité innée .....	171
Définition .....	171
Bases cellulaires et moléculaires.....	172
Les différentes formes vaccinales .....	172
Vaccin vivant atténué.....	173
Vaccin inactivé.....	174
Vaccin sous-unitaire et recombinant.....	175
Vaccins issus de la génétique inverse (vaccinologie <i>reverse</i> ) .....	175
Développements technologiques .....	177
Les différents vecteurs vaccinaux .....	181
Poxvirus.....	181
Flavivirus.....	182
Voies d'administration .....	182
Vaccins et médecine vétérinaire .....	182
Vaccins vétérinaires conventionnels .....	182
Vaccins issus des nouvelles technologies .....	184
Vaccins réassortants .....	186
Applications des vaccins prophylactiques en clinique humaine.....	186
Conclusions : de nouvelles approches en vaccinologie pour le 21 <sup>e</sup> siècle .....	188

<b>Chapitre 8. Analyse et diagnostic : techniques actuelles</b> D. ALDEBERT, S. BOISSET, S. BOURGOIN-VOILLARD, J. BRETON, B. BUSSEY, Y. CASPAR, P. CAVAILLES, G. CLAVARINO, C. DUMESTRE-PÉRARD, C. DURMORT, P. GILSON, M. MAURIN, V. SUTERA, B. TOUSSAINT (coordonnateurs : S. Bourgoïn-Voillard, J. Breton) .....	190
Biochimie et enzymologie .....	191
Répartition des enzymes et des protéines dans les liquides biologiques .....	192
Marqueurs enzymatiques et protéiques en pratique courante .....	192

Méthodes de dosage des protéines.....	193
Dosage d'enzymes .....	195
<b>Immunoessais .....</b>	<b>198</b>
Agglutination .....	198
Immunoprécipitation .....	199
Immunohistochimie .....	200
Réaction immunoenzymatique.....	201
Immunochromatographie sur membrane .....	203
Conclusion .....	204
<b>Microbiologie.....</b>	<b>205</b>
Objectifs .....	205
Aspects éthiques, enjeux socioéconomiques et réglementation liés au développement des techniques abordées et à leurs applications .....	205
Techniques de coloration des micro-organismes.....	205
Techniques d'isolement des micro-organismes en culture .....	207
Techniques d'identification des bactéries .....	207
Techniques immunologiques .....	208
Techniques de détection des acides nucléiques microbiens .....	210
Détermination de la sensibilité aux anti-infectieux .....	211
<b>Analyse tissulaire et cellulaire.....</b>	<b>213</b>
Préparation et coloration des tissus.....	214
Préparation des cellules .....	215
Microscopie .....	216
Cytométrie de flux .....	219
ELISpot .....	221
Cytogénétique .....	222
<b>Biologie moléculaire.....</b>	<b>223</b>
Hybridation moléculaire.....	223
Techniques d'amplification génique sélective (ADN et ARN) .....	225
Séquençage.....	230

<b>Chapitre 9. Les techniques innovantes d'analyse en biotechnologie</b>	K. ARAFAH, S. BOURGOIN-VOILLARD, J. BRETON, P. BULET, F. DE FRAIPONT, C. DURMORT, J. FAURÉ, P. FAURE, X. FONROSE, A. KARAGEORGIS, C. PISON, J. RENDU, M. SEVE (Coordonnateurs : S. Bourgoïn-Voillard, J. Breton) .....	234
<b>L'automatisation.....</b>	<b>235</b>	
L'automatisation : un processus déjà ancien, de nouveaux champs d'application .....	235	
Du laboratoire automatisé au laboratoire sur puce en biologie médicale .....	236	
Automates dans le domaine de la recherche .....	238	
<b>La miniaturisation .....</b>	<b>239</b>	
Systèmes d'analyse compacts .....	239	
Biopuces .....	240	
Conclusion .....	245	
<b>Jusqu'où l'imagerie peut-elle aller ? .....</b>	<b>246</b>	
Imagerie <i>in vivo</i> .....	246	
Microscopie de pointe .....	251	
Imagerie par spectrométrie de masse (MSI) .....	253	
<b>Vers une biologie à grande échelle ? .....</b>	<b>259</b>	
Séquençage nouvelle génération pour la génomique, la transcriptomique et l'épigénomique .....	261	
Protéomique.....	264	
Métabolomique.....	269	
Interactomique .....	273	

Microbiome .....	273
Conclusion .....	273
De l'analyse biomédicale à la médecine personnalisée .....	273
La génétique, un outil phare pour la médecine personnalisée .....	274
Médecine personnalisée en oncologie.....	277
Conclusion .....	280
<b>Chapitre 10. Les modèles économiques et l'entrepreneuriat dans la biotechnologie française</b> D. CATHERINE, C. GENET, S. LE LOARNE-LEMAIRE, V. SABATIER, M. THEODOSIOU (coordonnateur : V. Sabatier) .....	283
Les modèles économiques dans l'industrie biopharmaceutique .....	284
Concept de modèle économique .....	284
Chaîne de valeur du médicament.....	286
Industrie du médicament ante-biotechnologies : l'âge d'or de la chimie et du modèle économique de l'intégration totale.....	287
Émergence des entreprises de biotechnologies : de grands progrès scientifiques et de nombreuses start-ups de 1970 à 1990 .....	288
Biotechnologies et bioinformatique : la prolifération de nouveaux modèles économiques de la période 1990 à aujourd'hui .....	290
L'entrepreneuriat dans la biotechnologie française.....	293
Entrepreneuriat dans la biotechnologie française : aspects descriptifs.....	294
Entrepreneuriat dans la biotechnologie : une exception industrielle ?.....	298
L'entrepreneuriat dans la biotechnologie face aux grands enjeux entrepreneuriaux français .....	299
Conciliation vie privée-vie professionnelle de l'entrepreneur en biotechnologies en France.....	303
Conclusion générale .....	304
<b>Glossaire</b> .....	307
<b>Index</b> .....	311

# Préface

Pendant très longtemps, les chercheurs se sont interrogés sur les mécanismes de l'hérédité, dont les premières lois furent découvertes en 1865 par le moine Gregor Mendel, puis confirmées chez la souris (Clarence Little, 1909) et la drosophile (Thomas Morgan, 1910). Mais la compréhension de ces mécanismes ne répondait pas à la question, très fondamentale : quel est le support moléculaire (ou autre) de l'hérédité ? quel(s) élément(s) dans la cellule détient (détient) le système d'information du vivant ? Furent évoqués, tour à tour, nombre de constituants de la matière vivante, en particulier les protéines, pour déboucher en 1943 sur les expériences fondatrices de la biologie moléculaire moderne d'Oswald Avery, Colin MacLeod et Maclyn McCarty. Ces chercheurs démontrèrent, de manière indiscutable, que l'ADN contenait l'information génétique et constituait donc le support de l'hérédité. Une nouvelle ère commençait, ponctuée de découvertes très fondamentales sur la structure tridimensionnelle de cette molécule (Watson et Crick, 1953), sur les mécanismes de sa réplication au cours du cycle cellulaire, sur les mécanismes de recombinaisons génétiques, ceux capables de réparer certaines erreurs, et, de manière plus fine, sur le système de codage de l'information jusqu'à la régulation de l'expression des gènes.

En parallèle et en complément de ces découvertes sur l'ADN et ses propriétés, communes à la quasi-totalité du monde vivant, d'autres recherches se développaient à partir des années 60, qui aboutirent à la création d'une véritable boîte à outils du vivant, capable de réarranger des fragments d'ADN, et, progressivement, de poser les bases moléculaires des biotechnologies modernes. En étudiant les mécanismes de résistance de certaines bactéries aux phages lytiques, le concept d'enzymes de restriction, complété récemment par les mécanismes d'*editing* d'ADN, fournirent autant de molécules de grand intérêt, véritables ciseaux intelligents de l'ADN. La découverte de la *reverse transcriptase*, capable de synthétiser un brin d'ADN à partir d'ARN, l'utilisation de polymérases thermorésistantes issues d'« extrémophiles » pour la PCR complétèrent progressivement l'arsenal des outils indispensables à un véritable **génie génétique**. Les répercussions scientifiques et industrielles de ces découvertes, entrevues très partiellement dans les années 70, allaient révolutionner la biologie moléculaire, créant une nouvelle science, la génomique, et permettant d'aborder des problématiques de synthèse de molécules complexes, que la chimie ne permettait pas de résoudre. Les **biotechnologies moléculaires de l'ère moderne** étaient nées et allaient apporter, dans divers domaines d'applications industriels et de la santé, des solutions d'une rare élégance et d'une grande efficacité.

Ce terme « biotechnologie » est d'usage à l'évidence très récent. Pourtant, l'utilisation des biotechnologies remonte à fort loin. Les premières traces d'activités « biotechnologiques » datent de 6 000 ans. Leurs usages sont nés en effet lorsque l'humain, le chasseur-cueilleur, s'est sédentarisé il y a 10 à 15 000 ans, et est devenu progressivement agriculteur, éleveur, puis sélectionneur. Ces biotechnologies « traditionnelles » proviennent de l'exploitation de mécanismes de fermentation où des liquides sucrés se transforment en boissons alcoolisées (puis en vinaigre). Chacune de ces transformations résulte de la présence de micro-organismes (bactéries, levures, champignons), et fut progressivement appliquée à d'autres productions (gaz carbonique dans le pain, transformation du lait en yaourt, production de vinaigre, fabrication de bière, etc.). Notons que nos ancêtres ignoraient totalement l'existence de ces micro-organismes, et que tous ces produits étaient obtenus à partir de recettes empiriques plus ou moins bien établies, transmises par voie orale, et améliorées de génération en génération avec tous les aléas qu'on peut imaginer. C'est aussi durant cette longue période faite de nombreux petits progrès successifs que furent obtenus les plantes ou les animaux que nous connaissons aujourd'hui. Les sélectionneurs ou *hybrideurs* de ces époques ne connaissaient évidemment pas les lois de Mendel, et la mise en évidence du rôle des micro-organismes dans ces premières biotechnologies dut attendre l'époque pastorienne pour asseoir scientifiquement ces procédés utilisés à l'échelle planétaire depuis des millénaires, et éliminer définitivement l'idée de génération spontanée.

Au regard de cette histoire très ancienne, le champ des biotechnologies modernes s'est bien évidemment profondément élargi et transformé. **Ces biotechnologies se définissent comme l'ensemble des méthodes et des techniques qui utilisent des êtres vivants ou des éléments du vivant pour réaliser des transformations utiles à la santé, l'environnement, l'agroalimentaire, l'agronomie, l'industrie des matériaux, la chimie, l'industrie de l'énergie, etc.** Les biotechnologies dites modernes sont désormais d'utilisation très large. On parle de technologies diffusantes.

C'est avec un très grand plaisir que j'ai accepté de rédiger cette préface pour le premier tome de la série *Biotechnologies en Santé* qui présente, dans leur ensemble, les différents types de biotechnologies et leurs applications dans le domaine de la santé. Cet ouvrage, qui a l'ambition de mieux expliquer le fonctionnement, l'essor et les enjeux des biotechnologies qu'elles soient actuellement sur le marché ou en cours de développement, répond ainsi à un besoin pédagogique évident.

L'importance économique de ces applications est encore trop souvent ignorée dans notre pays, alors même que les États-Unis les appréhendaient dès la fin des années 70, au moment où les premières entreprises de biotechnologies furent créées et commencèrent à produire des substances de grand intérêt médical, à l'image de la production d'insuline ou des premiers végétaux modifiés génétiquement. Les progrès fulgurants de la biologie moléculaire, de la génétique, de la biochimie (depuis 50 ans), l'émergence, dans les années 90 de la biologie, dite « à grande échelle », qui bénéficiera des apports de la robotique, de l'automatique et surtout de l'informatique (de l'informatique fondamentale à la bio-informatique) eurent un impact considérable sur le développement des nouvelles approches biotechnologiques dans ces divers domaines. L'apparition récente de la biologie de synthèse, qui conçoit *in silico* des systèmes d'information complexes, puis les construit *in vivo*, pour accomplir des tâches nouvelles ou produire des molécules qui résultent d'un chemin métabolique, absent totalement ou partiellement, dans les micro-organismes, renforcera encore l'importance et le rôle des biotechnologies modernes.

Dans le domaine de la santé, biotechnologies moléculaires et biotechnologies cellulaires, alliées à la génétique, seront ou sont déjà à l'origine d'un **bouleversement de la pratique médicale**. En résumé et de manière schématique, on peut raisonnablement penser que la médecine d'organes, née il y a près de 2 500 ans, sera peu ou prou remplacée par une médecine dite « personnalisée », génétique, moléculaire et cellulaire, basée sur une médecine de précision, ayant vocation à une nouvelle taxonomie des pathologies humaines, où le choix d'un médicament et de sa posologie sera en grande partie déterminé par les données génétiques et génomiques du malade et la nature des anomalies moléculaires en cause.

L'industrie pharmaceutique sera profondément interpellée par ces progrès. D'une part, la chimie, omniprésente au cours du siècle dernier dans la conception et la fabrication des médicaments, fait une place de plus en plus importante aux biotechnologies, tant dans le diagnostic que dans l'apport de nouveaux médicaments, et, d'autre part, l'émergence des données génomiques dans les décisions médicales modifiera en profondeur le modèle économique de l'industrie des médicaments, qui sera comme dans d'autres domaines industriels, obligé à une recomposition de son paysage.

Rappelons, à titre d'exemples, la production industrielle de nouveaux vaccins, de protéines-médicaments recombinantes (érythropoïétine, interféron, anticorps monoclonaux, hormone de croissance, facteurs de l'hémostase) et demain l'utilisation, à des fins thérapeutiques, des mécanismes d'interférence par ARN, des approches de chirurgie génétique dans les maladies génétiques rares (thérapie génique, thérapie génique et cellulaire, *editing* ADN, etc.).

D'autres technologies récentes vont, elles aussi, bouleverser les pratiques médicales et industrielles. Tel est le cas des **cellules souches pluripotentes embryonnaires ou reprogrammées**. Ces cellules ont pu être isolées chez la souris, puis chez l'homme, à un stade très précis et précoce du développement embryonnaire (8 jours chez l'homme, 3 chez la souris). Elles ont deux propriétés fondamentales. Cultivées *in vitro*, elles **se multiplient indéfiniment** et paraissent éternelles, constituant ainsi une réserve inépuisable. Mises au contact de molécules spécifiques, elles peuvent **se différencier** et donner naissance à tous les tissus qui forment un organisme. On peut donc espérer les utiliser dans une approche de médecine régénérative pour reconstituer des organes déficients ou détruits. La maladie de Parkinson, le diabète, les grands brûlés et bien d'autres pathologies dégénératives pourraient ainsi bénéficier de ces thérapies cellulaires nouvelles. Il faut cependant réaliser que ces cellules souches pluripotentes dérivées d'un très jeune embryon ne sont pas compatibles génétiquement avec le receveur. Une solution remarquable à cette difficulté a été proposée, il y a quelques années (2006), par le groupe de Shinya Yamanaka (prix Nobel 2012), qui a démontré qu'on pouvait **reprogrammer** des cellules adultes d'épiderme, fibroblastes ou autres, et obtenir *in vitro* des cellules pluripotentes très proches, dans leurs propriétés, des cellules souches dérivées de l'embryon, mais avec



l'énorme avantage d'être génétiquement identiques à celles du donneur (et du probable futur receveur). Chacun de nous pourrait, à terme, disposer ainsi d'une réserve de cellules souches pluripotentes destinées à traiter telle ou telle pathologie dégénérative. Une nouvelle industrie, visant à produire ces cellules à des fins thérapeutiques humaines, est en développement rapide.

D'autres découvertes sont en cours d'investigation dans des domaines inattendus. Les imprimantes 3D sont ainsi utilisées pour tenter de reconstituer des organes. Ces recherches en sont à leurs débuts, mais nul doute que les développements seront spectaculaires. D'ores et déjà on peut reconstituer par imprimante 3D des os artificiels fabriqués à partir de composants biocompatibles, et qui peuvent être utilisés après perte osseuse importante (accident, cancer).

Dans le domaine de la santé, le monde des biotechnologies évolue si rapidement qu'on observe depuis un certain temps un raccourcissement saisissant de l'échelle temps entre la découverte d'une technique ou d'une thérapeutique et son application. Transmettre et intégrer toutes ces connaissances, même en les centrant sur les applications médicales, devient une entreprise quasi-impossible. De ce fait, les auteurs de cet ouvrage ont mobilisé de nombreux spécialistes (chercheurs, enseignants-chercheurs, praticiens hospitaliers, industriels...) pour couvrir les dernières avancées des biotechnologies dédiées à la médecine, sans oublier l'implication des experts des modèles économiques de l'industrie biopharmaceutique et biotechnologique.

Enfin, les auteurs ont fait l'effort d'aborder les questions éthiques et sociétales que soulèvent ces nouvelles technologies et/ou applications. Les plantes génétiquement modifiées ne sont qu'un exemple des questions auxquelles nos concitoyens ont déjà en partie répondu. Les questions éthiques, peut-être les plus fondamentales, que posent ces technologies, touchent à deux très grands domaines : l'environnement et le « transhumanisme » (amélioration génétique de l'espèce humaine).

En matière environnementale, le problème majeur tient au flux de gènes entre espèces naturelles et espèces modifiées génétiquement. Nous disposons aujourd'hui des moyens susceptibles d'éliminer totalement ce danger.

Le transhumanisme pose d'autres questions. Les technologies pour « améliorer » l'embryon humain existent. Elles devraient être mises au ban de l'humanité. Corriger un grave défaut génétique chez l'enfant ou chez l'adulte n'est pas éthiquement discutable. En revanche, améliorer génétiquement (transhumanisme) un embryon, même pour des raisons médicales, est à rejeter sans réserve. Par exemple, il vient d'être démontré que chez l'éléphant, qui ne développe pratiquement pas de cancer, un gène particulier (p53), impliqué dans la protection contre le cancer, était en 20 exemplaires. Chez l'homme, on le trouve en 2 exemplaires. Faudrait-il demain ajouter, dans chaque embryon humain, 18 gènes de p53 ? La réponse doit rester définitivement négative.

Pierre TAMBOURIN  
Directeur général de Genopole



# Avant-propos

Cet ouvrage présente un panorama des différents types de biotechnologies et de leurs applications qui sont devenues incontournables dans le domaine de la santé, qu'elles soient actuellement sur le marché ou en cours de développement.

Ces dernières décennies, les biotechnologies n'ont cessé d'évoluer pour répondre aux demandes de mise en place de biens et de services de plus en plus pointus dans le domaine de la santé. Cette évolution est fortement liée à l'accélération des découvertes scientifiques et technologiques et au développement d'approches multidisciplinaires qui ont transcendé les approches classiques de la R&D en santé. Ces efforts aboutissent au développement de multiples produits et techniques de biotechnologies qui sont appliqués soit à la production de nouvelles thérapeutiques à partir du vivant (transgénèse, production de cellules et de biomolécules, vectorisation, vaccins), soit à la création de nouvelles analyses en biologie médicale, avec des applications en dépistage, en diagnostic, ou pour le choix et le suivi des traitements de diverses pathologies. Dans ce contexte, une nette avancée a également été observée en bioinformatique. Cette discipline, longtemps considérée seulement comme un outil d'aide accessoire et souvent cantonnée à l'analyse de données en fin d'expérimentation, est devenue au cours de la dernière décennie une discipline de premier plan dans le domaine des biotechnologies. Les approches expérimentales en R&D évoluent et les approches *in silico* sont devenues de plus en plus un élément de départ et occupent une place prépondérante dans les différentes étapes de mise au point de produits biotechnologiques.

La première partie de cet ouvrage sera donc consacrée à l'apport de l'informatique dans les domaines multidisciplinaires des biotechnologies pour ensuite aborder les différents domaines de ces biotechnologies qui comprennent la production, les applications thérapeutiques et l'analyse de molécules issues des biotechnologies, de cellules ou de vaccins. Chaque chapitre reprend les définitions essentielles, précise le principe des technologies et laisse une place importante aux applications. Outre les aspects scientifiques, nous aborderons également les aspects éthiques et les enjeux socio-économiques liés au développement de ces techniques et de leurs applications.

Ce livre est destiné aux étudiants et à des professionnels scientifiques, biologistes, cliniciens et industriels désirant découvrir quelles sont les biotechnologies disponibles pour répondre à leurs problématiques scientifiques et économiques.

Sandrine BOURGOIN-VOILLARD, Walid RACHIDI et Michel SEVE

# Remerciements

Nous souhaitons remercier toutes les personnes qui ont contribué à la conception, la rédaction et la finalisation de cet ouvrage qui regroupe les grands enjeux d’hier, d’aujourd’hui et de demain dans les biotechnologies en santé. Merci à tous les auteures et auteurs, professeurs des universités, enseignants-chercheurs, praticiens hospitalo-universitaires, praticiens hospitaliers, directeurs de recherche, chargés de recherche, chercheurs et ingénieurs d’avoir participé à la rédaction de ce livre et de transmettre ainsi votre savoir sur les thématiques dont vous êtes spécialistes. Merci également à tous les coordonnateurs de chapitres, qui ont su mener à bien la rédaction de leur chapitre en faisant appel à des notions multidisciplinaires et aux multiples acteurs spécialistes dans leur domaine, mais aussi d’avoir participé à la réflexion pour que ce livre soit cohérent dans son ensemble. Un grand merci en particulier à toute l’équipe d’enseignants-chercheurs de l’Université Joseph Fourier (Grenoble) qui a cru dès le début en ce projet et dont la forte motivation a permis son aboutissement.

Merci aussi à plusieurs scientifiques dont les conseils ont été très précieux pour rédiger certaines parties de ce livre. Nous tenons en particulier à remercier Claude Olivier Sarde (MCF, Université de technologie de Compiègne) pour ses remarques très pertinentes concernant le chapitre traitant de la transgénèse au clonage, en passant par la thérapie génétique. Merci également à Xavier Gidrol (Directeur de recherche CEA, iRTSV, Grenoble) pour ses conseils et les images qu’il nous a données sur les cultures miniaturisées des cellules eucaryotes. Un grand merci à Thierry Vernet (Directeur de recherche CEA, IBS, Grenoble) qui a partagé ses connaissances sur l’automatisation au sein des laboratoires de recherche.

Nous souhaitons témoigner de vifs remerciements à Charles Auffray, European Institute for Systems Biology and Medicine (EISBM, CNRS-ENS-UCBL, Lyon), chercheur de renommée internationale en génomique fonctionnelle et biologie systémique, qui a pris le temps de relire ce livre et dont les critiques ont été très constructives pour l’améliorer et aboutir à cette version finale.

Nous souhaitons apporter toute notre gratitude à Pierre Tambourin (Directeur général de Genopole, Évry) qui, malgré ses charges et de nombreuses sollicitations dans la communauté scientifique des biotechnologies, a trouvé le temps et a accepté de rédiger la préface de ce livre.

Un grand merci aux éditions Lavoisier, et plus particulièrement à Emmanuel Leclerc et à Sylvie Cortès, d’avoir cru en notre projet et de nous avoir permis de publier ce livre.

Nous tenons également à remercier M. Gérard Vallet d’avoir pris le temps de relire cet ouvrage et dont l’aide a été très précieuse pour les corrections typographiques.

Merci enfin à nos familles de nous avoir soutenu pendant la rédaction et la coordination de cet ouvrage qui nous a parfois rendus peu disponibles pendant plusieurs soirées et week-ends.

Sandrine BOURGOIN-VOILLARD, Walid RACHIDI et Michel SEVE