

## 1. Innovation en biotechnologie

Les innovations biotechnologiques n'ont cessé de croître au cours des dix dernières années, non seulement dans le domaine médical, mais aussi dans les secteurs de l'agriculture, de l'environnement et de l'énergie. La quasi-totalité de ces innovations biotech impliquent le génie génétique, la protéomique, la bio-informatique, ...etc.

L'innovation de produit correspond à la création d'un produit nouveau ou encore à une amélioration importante d'un produit déjà existant. L'innovation de procédé (ou de process) correspond à la création de nouvelles techniques/méthodes de production et/ou de vente. Enfin l'innovation organisationnelle correspond à la création d'une nouvelle organisation du travail ; elle s'apparente à l'innovation de procédé.

## 2. Les techniques utilisées dans le processus de développement d'un produit biotech

### 2.1. La protéomique

Elle désigne la science qui étudie les protéomes, c'est-à-dire l'ensemble des protéines d'une cellule, d'un organite, d'un tissu, d'un organe ou d'un organisme à un moment donné et sous des conditions données. L'étude du protéome révolutionne la connaissance du vivant. Les principaux objectifs de la protéomique sont : d'identifier, de quantifier et caractériser finement les protéines présentes dans un échantillon biologique à un instant T. Elle étudie aussi les interactions que les protéines ont avec d'autres protéines, avec l'ADN ou l'ARN, ou d'autres substances. La protéomique fonctionnelle étudie les fonctions de chaque protéine.

### 2.2. La génomique

C'est une discipline de la biologie moderne. Elle étudie le fonctionnement d'un organisme, d'un organe, d'un cancer, etc. à l'échelle du génome, au lieu de se limiter à l'échelle d'un seul gène. La génomique se divise en deux branches :

- La *génomique structurale*, qui se charge du séquençage du génome entier ;
- La *génomique fonctionnelle*, qui vise à déterminer la fonction et l'expression des gènes séquencés en caractérisant le transcriptome et le protéome.

### 2.3. La bio-informatique

Domaine interdisciplinaire, situé au carrefour de l'informatique, des mathématiques et de la biologie, qui traite de l'application de l'informatique aux sciences biologiques.

La bio-informatique est un vaste domaine qui recouvre l'ensemble des utilisations de l'informatique pour la gestion, l'entreposage, l'analyse, le traitement, l'organisation, la comparaison et la diffusion de données relatives à l'ensemble des sciences biologiques (physiologie, écologie, biochimie, biologie moléculaire et, dans une large mesure génétique et génomique).

### 2.4. La modélisation moléculaire

La modélisation moléculaire est un ensemble de techniques pour modéliser ou simuler le comportement de molécules. Elle consiste à construire des modèles des molécules ou d'ensemble de molécules (structure tridimensionnelle), dans le but de mieux en comprendre la structure et les autres propriétés physico-chimiques. On l'utilise aussi pour concevoir de nouveaux médicaments.

### 3. Découverte et amélioration des molécules : exemple des médicaments

Il existe différentes sources de nouveaux médicaments :

- chimique : propranolol
- extraction animale : insulines
- extraction végétale : digitaline (tonicardiaque) taxol (anticancéreux) à base d'extrait d'if, morphine
- extraction minérale : bismuth, hydroxyde d'aluminium
- biotechnologie : insuline recombinante, hormone de croissance, thérapie génique
- dérivés sanguin : albumine.

Plusieurs découvertes médicamenteuses sont issues de la sérendipité ou l'art de trouver ce que l'on ne cherchait pas, comme par exemple la découverte de la pénicilline par Fleming. Le processus de découverte de nouveaux médicaments représente un grand défi pour l'industrie pharmaceutique. Il se résume essentiellement à identifier de nouveaux composés (molécules naturelles ou synthétiques) qui vont idéalement évoluer en des médicaments agissant sur des cibles biologiques spécifiques responsable de dysfonctionnements. L'identification des cibles thérapeutiques est liée à la connaissance du fonctionnement moléculaire, des voies métaboliques, des systèmes biologiques en général et à la cause des maladies.

Aujourd'hui la technique de screening pharmacologique ou de criblage haut débit est de plus en plus utilisée. Il s'agit, à partir d'une molécule reconnue comme active, d'effectuer une série de tests sur les membres appartenant à la même famille, cette étape sert à la fois à découvrir de nouvelles molécules et à étudier de façon précoce leurs propriétés (interaction ligand-récepteur). Avec les progrès de l'informatique, il est désormais possible de réaliser un screening virtuel par imagerie 3D, en modélisant les molécules et les récepteurs pour prédire les compatibilités dimensionnelles ligand-récepteur.

#### 3.1. Le criblage cellulaire haut débit

Le criblage cellulaire haut débit vise à identifier, parmi des milliers de molécules naturelles ou synthétiques, celles qui possèdent une activité intéressante au niveau de la cellule, soit en modifiant une fonction cellulaire particulière, soit en agissant sur la cellule dans son ensemble. Ce travail de grande ampleur s'effectue grâce à un ensemble d'appareillages automatisés, combinant la robotique, l'informatique et la bio-informatique. Le criblage haut débit peut aussi être utilisé sur des enzymes dont l'activité est déjà connue et que l'on va chercher à perturber avec les molécules. Les grandes étapes se résument comme suit :

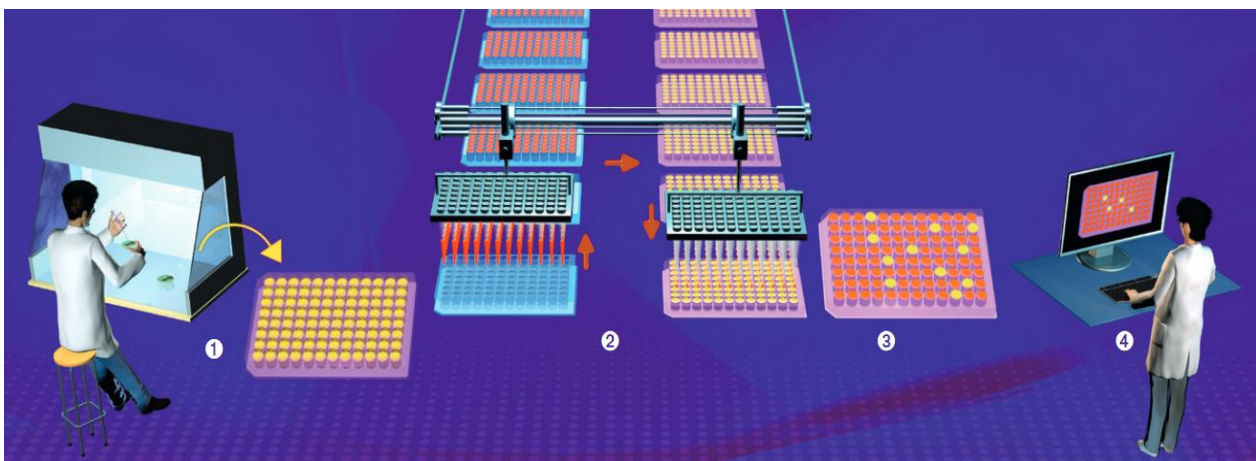


Figure : Criblage cellulaire haut débit.

## A. Criblage primaire :

### 1. Préparation des cellules

Des cellules adaptées au criblage à réaliser sont sélectionnées et cultivées afin d'en obtenir un grand nombre. Une fois multipliées, les cellules, toujours vivantes, sont réparties de manière équitable (quelques microlitres de solution par puits) dans les puits de plaques de criblages.

### 2. Incorporation des molécules

En parallèle à la préparation des cellules, les molécules issues d'une collection de composés chimiques, appelée « chimiothèque », sont mises en solution à une concentration définie et distribuées à leurs tours dans les puits d'une autre plaque. Les plaques contenant les cellules et celles contenant les molécules sont ensuite placées dans le robot. Un bras automatisé permet alors de pipeter les molécules, une par une, et de les déposer sur les cellules (une molécule par puits).

### 3. Lecture des résultats

Après incubation, une lecture des plaques contenant le mélange molécule-cellules est réalisée par des systèmes d'analyses. L'activité de la molécule est alors détectable et quantifiable grâce à un signal (visualisation sous UV, par fluorescence ou par luminescence...). Lorsque des molécules sont identifiées comme biologiquement actives, on parle de « touches ».

## B. Criblage secondaire

### 4. Confirmation des résultats

Les molécules « touches » identifiées lors du criblage primaire sont ensuite criblées une seconde fois à des concentrations plus faibles afin de confirmer et d'affiner leurs activités. Ce deuxième « filtre » permet de faire une nouvelle sélection parmi les molécules actives pour en réduire le nombre. Les quelques molécules possédant les meilleures activités, seront par la suite étudiées afin de mieux comprendre leurs mécanismes d'action.

### 3.2. Criblage virtuel (ou essai *in silico*)

Le criblage virtuel est une technique informatique utilisée en recherche dans le domaine de la conception des médicaments. Pour encore accélérer les découvertes, en limitant les risques liés à des produits ou organismes susceptibles d'être dangereux, des chercheurs ont développé des techniques de criblage virtuel en travaillant avec des modèles mathématiques de molécules ou de protéines et en cherchant à créer toutes les combinaisons possibles, y compris des formes qui ne pourraient pas être synthétisées ou viables dans la nature. Alors, le criblage virtuel est le fruit des avancés scientifiques dans les domaines de la modélisation moléculaire, la chimie combinatoire et la biologie moléculaire. De nos jours typiquement un million de molécules doivent être testé en une courte période de temps, d'où la nécessité d'avoir des méthodes *in silico* pour faire un criblage rapide et efficace.

(Essai *in silico* désigne une recherche ou un essai effectué au moyen de calculs complexes informatisés ou de modèles informatiques).

#### ✓ Pourquoi faire du criblage virtuel ?

Premièrement pour des raisons scientifiques reliées à l'augmentation croissante du nombre de cibles, et notamment les cibles 3D, l'augmentation de la puissance de calcul des ordinateurs et une meilleure prédiction des interactions protéine-ligand.

Deuxièmement pour des raisons économiques reliées au coût très élevé du criblage à haut débit ou expérimentale qui n'est pas souvent possible dans le milieu de la recherche et dans les petites compagnies.

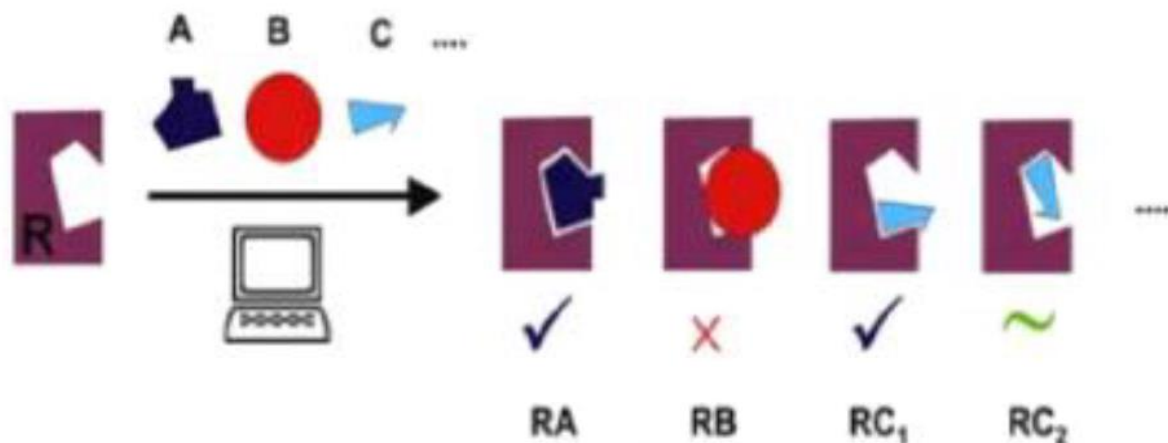
Le criblage virtuel se résume en une recherche dans une chimiothèque tridimensionnelle (3D) de molécules satisfaisant aux contraintes d'un pharmacophore et de la structure 3D d'une cible (protéine, ADN, ARN).

### 3.3. Le docking moléculaire

Le criblage virtuel par docking moléculaire est une nouvelle approche visant à simuler l'affinité d'un très grand nombre de ligands pour une cible thérapeutique donnée, plus simple à mettre en place, plus rapide à un coût bien moindre que les criblages expérimentaux. Aujourd'hui, ces approches sont devenues des étapes indispensables et cruciales dans de nombreux programmes de découverte de médicaments.

Le Docking moléculaire (ancrage, amarrage ou arrimage moléculaire) est une méthode qui prédit l'orientation d'une molécule par rapport à une autre pour avoir le complexe le plus stable. Il est basé sur la complémentarité des surfaces et le calcul de l'énergie du complexe. Les études d'amarrage sont utiles à calculer la force et le genre du signal produit.

Autrement, on peut considérer l'amarrage comme une situation de *serrure* et *clef* où on s'intéresse à trouver la bonne orientation relative de la clef (le ligand) qui active la serrure (la protéine). Néanmoins, puisque le liant et la protéine sont tous les deux flexibles, il est plus adapté de comparer cette situation à celle où une *main* rentre dans un *gant*. Au cours du mécanisme, le liant et la protéine s'ajustent pour améliorer leur serrage.



**Figure : Principe de docking moléculaire.**

Une molécule (ligand) est placée dans le site actif d'une protéine cible dans un espace tridimensionnel (3D). Deux aspects sont importants : la prédiction de l'affinité du complexe [ligand- protéine], et la prédiction de la position correcte du ligand dans le site actif de la protéine.

#### 4. Recherche et développement de nouveaux produits agroalimentaires

Les consommateurs sont de plus en plus exigeants et les tendances du marché évoluent rapidement. Aujourd'hui, les besoins des consommateurs à l'égard des aliments sont de plus en plus ciblés : la santé, le plaisir (culinaire ou sensoriel), la sécurité et la praticité en sont quelques-uns. Il est essentiel de les considérer. Le développement de nouveaux produits commence par la recherche d'idées de nouveaux produits. Il faut généralement produire un grand nombre d'idées avant de pouvoir en identifier quelques-unes qui valent la peine d'être approfondies. On résume les étapes en ce qui suit :

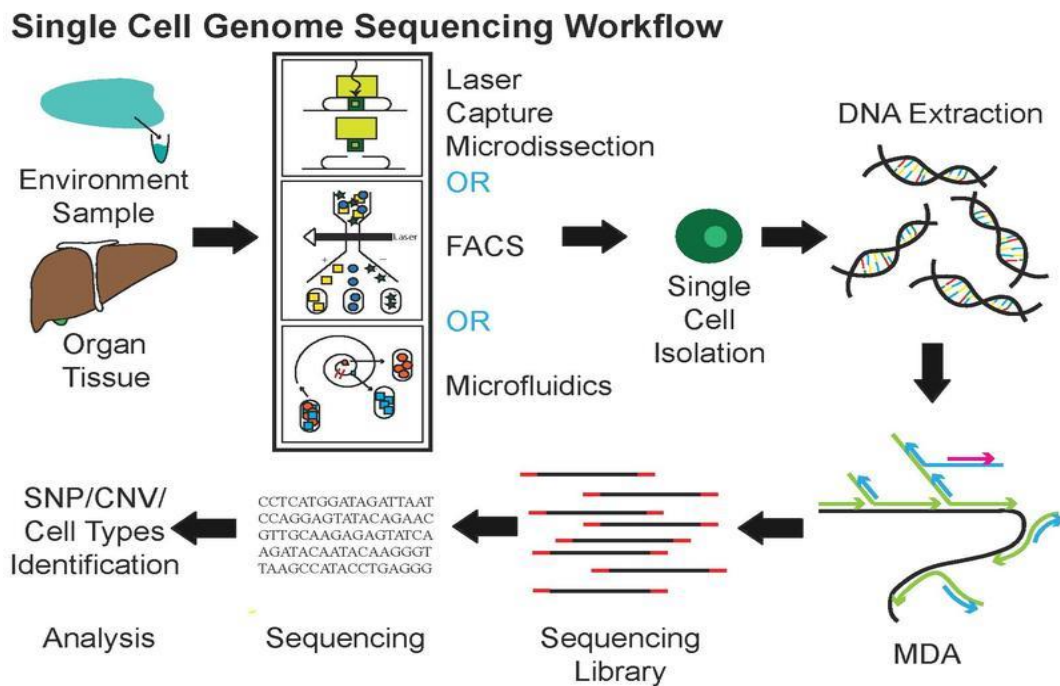
- Génération d'idées
- Formulation et développement de prototypes, échelles du laboratoire et pilote
- Procédé de fabrication
- Conditionnement et durée de conservation
- Transfert à l'usine
- Amélioration de produits existants
- Prolonger la durée de conservation
- Améliorer les propriétés sensorielles
- Améliorer la qualité nutritionnelle

#### 5. Les principales innovations biotechnologiques actuelle

##### 5.1. Technologies de la cellule unique

Les technologies unicellulaires fournissent des vues détaillées des environnements cellulaires et sont des outils importants utilisés dans la découverte de médicaments et la recherche clinique. Le séquençage sur cellule unique (single cell sequencing) est un ensemble de techniques de biologie moléculaire qui permet l'analyse de l'information génétique (ADN, ARN, etc) à l'échelle d'une seule cellule, grâce à l'optimisation des technologies du séquençage nouvelle génération (NGS). En comparaison des techniques de séquençage traditionnel, cette technologie permet d'étudier les différences cellulaires avec une résolution optimale et ainsi de comprendre la particularité d'une cellule au sein de son micro-environnement.

Par exemple, la société Mission Bio propose sa plateforme Tapestri, permettant aux chercheurs d'établir le génotype et le phénotype d'une seule et même cellule. Les analyses de cellules uniques nécessitent généralement plusieurs machines avec des protocoles distincts, mais Berkeley Lights a franchi une étape supplémentaire en développant une seule machine capable de traiter et d'analyser les cellules une par une, simultanément.



**Figure :** Les différentes étapes du séquençage de cellule unique.

MDA: *multiple displacement amplification*.

## 5.2. Biocapteurs à aptamères

Les glucomètres, les tests de grossesse et les détecteurs de métaux lourds ne sont que quelques-uns des détecteurs à base de biocapteurs mis au point et utilisés depuis les années 1960. Les biocapteurs sont constitués d'enzymes, d'anticorps ou de microbes qui permettent de lire le composé détecté. Les nouvelles technologies de détection se sont concentrées sur les méthodes basées sur les aptamères d'acide nucléique, car elles ont le potentiel d'être plus sensibles, stables et rentables que les méthodes précédentes. Un aptamère est un oligonucléotide synthétique, le plus souvent à ARN ou ADN qui est capable de fixer un ligand spécifique et parfois de catalyser une réaction chimique sur ce ligand. Pour les tests environnementaux ou les diagnostics médicaux où la complexité des échantillons est élevée, les aptamères pourraient être le bon type de molécule et un certain nombre de sociétés se sont concentrées sur le développement d'aptamères à ces fins. Par exemple, la société sud-coréenne Aptamer Sciences a mis au point un test de diagnostic *in vitro* appelé AptoDetect-Lung, qui évalue le risque de développer un cancer du poumon par un patient en détectant sept biomarqueurs du cancer du poumon.

AptoDetect™-Lung est le premier kit de diagnostic du cancer du poumon (Classe III).



### 5.3. Les thérapies cellulaires actuelles

Les scientifiques développent des thérapies cellulaires délivrant des médicaments. Chez les patients diabétiques de type 1, l'altération des cellules  $\beta$  pancréatiques entraîne une carence en insuline et une accumulation de glucose dans le sang, ce qui provoque des symptômes tels que des mictions fréquentes, une soif excessive et des maux de tête. Une solution possible est en cours de développement par Seraxis en développant un dispositif implantable composé de cellules pancréatiques cultivées en laboratoire qui réagissent directement à la glycémie du patient. Le dispositif contient des cellules d'îlots fabriquées à partir de cellules souches pluripotentes induites (iPSC) et vise à éliminer les traitements médicamenteux pour ces patients. Une autre société qui développe actuellement des traitements ponctuels implantables est la société LCT (living cell Technologies). Leur thérapie NTCCell consiste en une capsule recouverte d'alginate contenant des cellules néonatales du plexus choroïde qui est implantée dans le cerveau de patients atteints de la maladie de Parkinson. Les cellules du plexus choroïde fournissent du liquide céphalo-rachidien, des mitogènes et d'autres facteurs qui favorisent la croissance et la fonction neuronales.

### 5.4. Applications des cellules souches

Les cellules souches pluripotentes induites (CSPi) (en anglais *Induced pluripotent stem cells* soit iPS ou iPSCs) sont des cellules souches pluripotentes générées en laboratoire à partir de cellules somatiques. Ces cellules souches induites ont le potentiel de se différencier en n'importe quelle cellule du corps humain et ont donc des applications très variées en thérapie et en recherche biomédicale.

La capacité de générer un type de cellule souhaité par différenciation contrôlée s'est avérée importante sur le plan industriel. Par exemple, une entreprise canadienne, NovoHeart, a mis au point une solution pour les chercheurs qui souhaitent effectuer des tests de médicaments pour les maladies cardiaques. Sa plateforme MyHeart utilise des iPSC pour générer des modèles de tissus ou d'organes cardiaques humains, tels que leur chambre organique cardiaque ventriculaire humaine (ou cœur humain en bocal), qui reproduit plus fidèlement l'environnement cardiaque humain réel que les modèles animaux généralement utilisés au cours du développement préclinique. MyHeart est destiné à prédire, avec plus de précision, les effets des nouveaux médicaments avant qu'ils ne passent aux essais cliniques.

Les technologies des cellules souches ne se limitent certainement pas à la recherche et aux traitements médicaux, comme en témoigne le nombre d'entreprises qui investissent dans les viandes de culture et les protéines alternatives. Grâce à l'agriculture cellulaire, des entreprises comme Champs d'avenir, Viandes de Memphis et Super Meat mettent au point du poulet, du bœuf, du canard, des œufs et du lait cultivés en laboratoire. La première galette de hamburger a été produite en 2013 dans le laboratoire de Mark Post à l'université de Maastricht, mais au prix colossal d'environ 300 000 USD.

### 5.5. Plateformes basées sur CRISPR

CRISPR (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats, soit en français courtes répétitions en palindrome regroupées et régulièrement espacées) désigne un ensemble de molécules qui permettent de modifier l'ADN de plantes et d'animaux avec une grande précision. À l'origine, les séquences CRISPR sont des répétitions trouvées dans le génome bactérien et correspondent à des séquences de virus. Il s'agit d'un système de défense bactérien découvert dans les années 1980 par le biologiste japonais Atsuo Nakata. Les ARN codés par CRISPR se lient à l'enzyme Cas9 (nucléase) qui peut couper l'ADN du virus.

Les premières entreprises à entrer dans des essais cliniques sur l'homme avec une thérapie basée sur CRISPR sont Thérapeutique CRISPR et Vertex Pharmaceuticals en 2018. Cette thérapie (CTX001 est *ex vivo*) est étudiée pour le traitement de la  $\beta$ -thalassémie et de la drépanocytose. La thérapie consiste à extraire les cellules souches sanguines du patient, à modifier les gènes à l'aide de CRISPR-Cas9 et à réintroduire les cellules chez le patient. Bien que l'évaluation clinique du CTX001 soit encore précoce, les résultats préliminaires ont montré les avantages potentiels du traitement chez les patients atteints d'hémoglobinopathies. Synthetic Génomique en partenariat avec Exxon Mobile, met au point des microalgues modifiées par CRISPR qui produisent davantage de lipides, ce qui améliorerait la fabrication du pétrole en réduisant potentiellement les émissions de CO<sub>2</sub> et la dépendance aux combustibles fossiles. PLANTeDit et Toolgen utilisent CRISPR-Cas9 pour créer des cultures durables telles que le soja sans introduire d'ADN étranger.

### 5.6. Disques durs ADN

Pour surmonter les limites technologiques des moyens de stockage actuels (capacité limitée, informations altérées sur le long terme), des chercheurs se sont tournés vers les propriétés de l'ADN. D'autres étudient l'utilisation de polymères synthétiques, constitués de monomères, pour écrire, lire et effacer l'information. Les scientifiques ont envisagé pour la première fois l'utilisation de molécules d'ADN pour le stockage de données en 1988. Depuis lors, diverses institutions et entreprises ont investi leurs efforts dans le développement de systèmes de stockage de données basés sur l'ADN, étant donné que le coût, la consommation d'énergie et l'espace sont considérablement réduits. Il est remarquable que l'on estime que le stockage de toutes les données du monde tiendrait dans un seul kg d'ADN.

Des chercheurs de l'école polytechnique fédérale de Zurich sont parvenus à démontrer qu'une molécule d'ADN permettrait de stocker des données numériques pendant plus de 2000 ans sans que ces dernières ne soient altérées. Un fragment d'ADN pourrait, quant à lui et en théorie, stocker plus de 300 000 téraoctets (10<sup>12</sup> octets) de données.

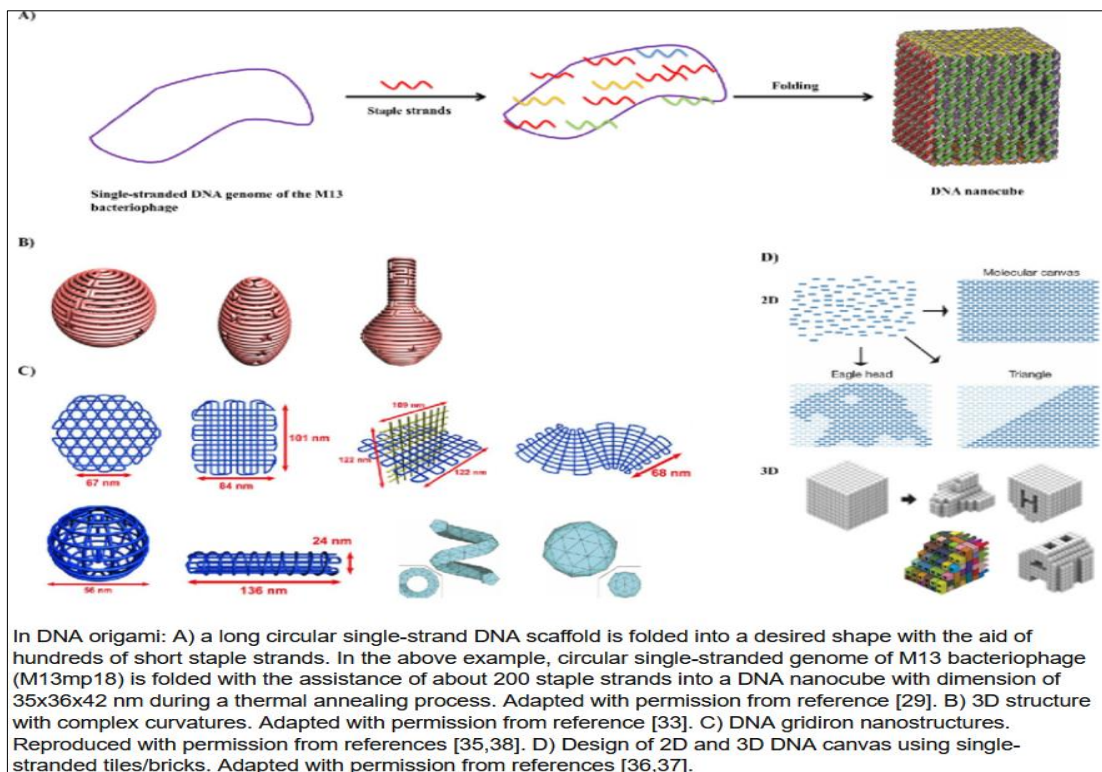
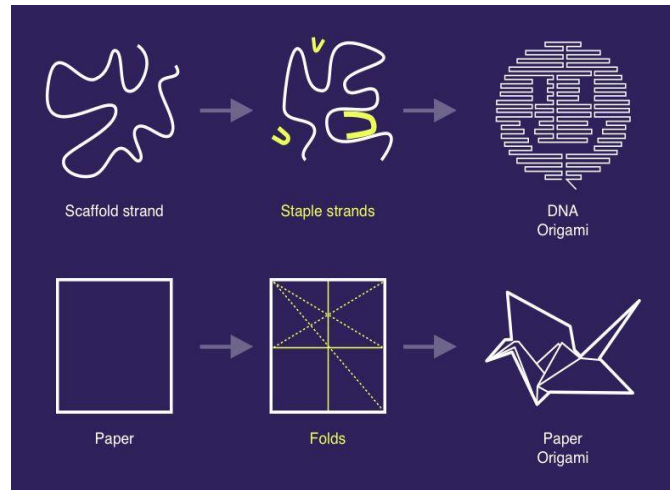
### 5.7. Origami ADN

L'origami ADN est une technique qui consiste à réaliser des formes arbitraires à partir de morceaux d'ADN. Elle fut développée par Paul Rothemund, du California Institute of Technology. Il a présenté une méthode d'assemblage de l'ADN en carrés, triangles, visages heureux et autres formes bidimensionnelles. Ces études présentent des images claires et tridimensionnelles des nanostructures d'ADN, ce qui montre que les acides nucléiques peuvent être conçus pour s'assembler en un nombre illimité de structures ayant un potentiel d'application en médecine, en électronique et dans les biomatériaux.

Actuellement, l'origami ADN est développé pour générer des plateformes d'administration de médicaments, les nanorobots de diagnostic, et des nanofabriques intégrant des enzymes pour des applications telles que la production de métabolites.

Les nanorobots de Nanovery (Nanovery est une entreprise biotechnologique qui développe des nanorobots utilisés pour diagnostiquer des maladies mortelles à un stade précoce) sont conçus en utilisant l'intelligence artificielle pour détecter l'ADN tumoral circulant (ADNc). Leur nanorobot de diagnostic est destiné à remplacer les tests actuels de biopsie liquide pour l'ADNc, qui nécessitent beaucoup de temps et d'argent. Le nanorobot est inséré dans un échantillon de sang et, si de l'ADN cancéreux est détecté, il s'allume dans les 1 à 2 heures.





**Figure :** La technique Origami d'ADN.