

## Chapitre IV :

### 4. Application des biotechnologies dans le domaine médical

#### 4.1. Production d'hormones

Les biotechnologies appliquées au secteur pharmaceutique recouvrent l'ensemble des techniques utilisant les ressources du vivant pour concevoir et produire des substances actives.

##### Qu'est-ce que c'est un Hormone ?

Une hormone est une substance biologique synthétisée par des cellules spéciales (les cellules endocrines) et directement sécrétée dans le sang ou la lymphe. Il existe différents types d'hormone Hormones peptidiques, lipidiques et stéroïdiennes (cortisol, testostérone...) dérivent du cholestérol. Les hormones servent à transmettre un signal chimique : elles exercent une action à distance, sur un tissu ou organe différent du lieu d'émission et qui possède des récepteurs pour l'hormone.

##### Exemples d'organes qui fabriquent des hormones et des hormones qu'ils sécrètent :

**L'hypophyse** : L'hypophyse est une glande endocrine située dans le cerveau.

➤ (ACTH = hormone corticotrope, ocytocine, vasopressine, la prolactine (LTH), qui stimule la synthèse du lait ...)

**La thyroïde** : est une glande endocrine, qui synthétise et largue dans la circulation sanguine des hormones thyroïdiennes.

➤ La thyroxine (T4) et la triiodothyronine (T3). Ces hormones ont un rôle dans le métabolisme basal, en favorisant par exemple la croissance et en stimulant la consommation des graisses et des sucres.

**Les glandes surrénales** : adrénaline, cortisone, aldostérone, DHEA...

**Le pancréas** : insuline, glucagon,

**Le testicule** : testostérone,

**L'ovaire** : œstrogènes, progestérone...

##### Rôles des hormones : croissance, reproduction, sommeil...

Les hormones ont des rôles variés, dans : la croissance (hormone de croissance) ; l'homéostasie ; la reproduction et la gestation (hormones sexuelles) ; le sommeil (mélatonine)...

##### Hormones et traitements

Les hormones sont aussi utilisées dans des traitements comme, par exemple :

- En oncologie dans le cadre des hormonothérapies, car des hormones peuvent jouer un rôle dans la croissance cellulaire ;

- pour traiter les troubles de la ménopause : traitement hormonal substitutif ; pour la contraception hormonale.

### **Hormones végétales**

Par extension, en biologie végétale, on utilise le terme de « phytohormone » ou « hormone végétale » pour désigner des molécules comme l'auxine, la gibbérelline, la cytokinine, l'éthylène et l'abscissine (acide abscissique), qui agissent sur le développement des plantes.

### **Production d'hormones**

A côté des méthodes classiques de fermentation, le génie génétique a permis la production de substances actives, en particulier des protéines endogènes recombinantes, et a favorisé le développement de médicaments plus sûrs telle que l'hormone de croissance humaine recombinante. Des organismes génétiquement modifiés, plantes ou animaux transgéniques, microorganismes recombinants sont utilisés soit pour la production de molécules actives, soit comme vecteur permettant de délivrer ces molécules à leur site d'action.

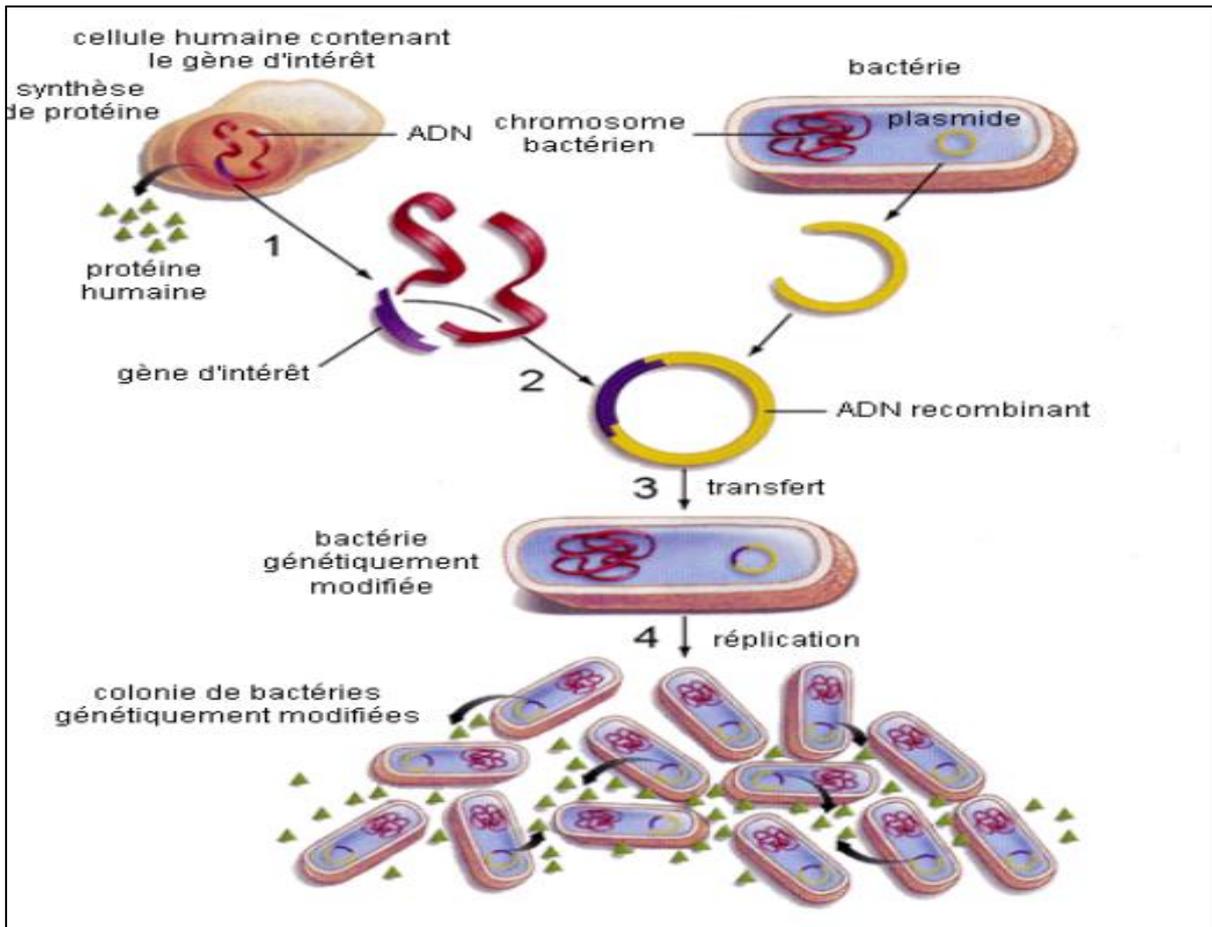
Des hormones naturellement présentes telles que la progestérone, la testostérone, l'oestrone et celles du cortex peuvent actuellement être synthétisées par des microorganismes et à faible coût.

**L'hormone de croissance humaine** : ou HGH (*Human Growth Hormone*) utilisée pour traiter les déficiences hypophysaires entraînant le nanisme (hypopituitarisme), était précédemment obtenu on prélevant les glandes pituitaires d'humains décédés. Obtenir suffisamment d'hormone était à la fois difficile et coûteux, l'utilisation de cette hormone était très limitée. L'hormone de croissance extraite des animaux n'est pas efficace sur l'homme. Le gène pour la synthèse de l'hormone de croissance a été introduit chez *E. coli*, et cette bactérie génétiquement modifiée, constitue à présent, la source commerciale de l'hormone. Près de 30 000 enfants prenaient cette hormone aux États-Unis.

Grâce aux biotechnologies, le gène codant l'hormone de croissance a été identifié, isolé, puis inséré dans le code génétique de la bactérie *Escherichia coli*. Celle-ci peut se multiplier rapidement et produire cette hormone en grande quantité et sans aucun risque. Dans un premier temps, des chercheurs ont réussi à extraire de cellules humaines le gène de l'hormone de croissance puis à l'intégrer dans l'ADN des bactéries de l'espèce *Escheridia coli*. La production industrielle d'hormone "humaine" se fait alors dans de grandes cuves où l'on cultive ces bactéries génétiquement modifiées : les conditions de vie de ces bactéries sont soigneusement contrôlées pour favoriser leur multiplication. Les bactéries utilisent le gène humain et

produisent de l'hormone de croissance humaine. Il faut alors extraire et purifier l'hormone ainsi produite.

(1) : le gène d'intérêt est isolé à partir du génome humain (2) : puis inséré dans le plasmide d'une bactérie. (3) : Le plasmide modifié est alors transféré dans la bactérie (4) : qui se multiplie rapidement en colonie, laquelle produit la protéine humaine d'intérêt en grandes quantités.



### L'insuline humaine :

L'insuline est une hormone produite par le pancréas. Sa production insuffisante entraîne le diabète. Aujourd'hui, les diabétiques disposent d'insuline humaine produite par génie génétique : Avant de produire l'insuline par des microorganismes, on utilisait celle, extraite des porcs ou des bœufs. Du point de vue structural, ce n'est pas précisément la même que l'insuline humaine, et elle n'est de ce faite pas aussi efficace. En plus, Le nombre de cas de diabètes augmentant continuellement, il a fallu trouver une autre méthode afin de produire de l'insuline en grande quantité et à faible coût. on isole d'abord le gène producteur d'insuline. On utilise ensuite un vecteur d'expression : un plasmide. C'est le transporteur génétique du gène. Il est

inséré dans une cellule hôte, une bactérie *Escherichia coli*. Cette bactérie ainsi modifiée se multiplie dans un fermenteur en produisant automatiquement de l'insuline humaine.

Avec le développement du génie génétique, on s'est donc tourné vers les microorganismes. Depuis 1984, la production à grande échelle de l'insuline est réalisée commercialement avec la bactérie *E. coli* génétiquement modifiée.

En 1987, on a également commencé à produire de l'insuline avec la levure *Saccharomyces cerevisiae*. Le chloroplaste modifié par génie génétique du tabac et de la carotte exprime de nombreuses protéines à activité thérapeutique tels que l'hormone somatotrope humaine, la sérulalbumine humaine, des interférons et les facteurs de croissance IGF (insulin-like growth factor).

## 4.2. Production de vaccins

Les antigènes génétiquement modifiés sont maintenant une réalité grâce aux avancées des biotechnologies. Ces antigènes présentent plusieurs avantages par rapport aux antigènes extraits de bactéries pathogènes ou de virus. Les antigènes générés par des bactéries sont moins coûteux, plus facilement purifiés et exempts de contaminants par d'autres protéines.

### Les étapes de la production industrielle des vaccins

#### La production de la substance active

Il s'agit de produire un antigène capable de stimuler la production d'anticorps par notre système immunitaire. Cet antigène provient du germe (virus, bactéries ou parasite) qui provoque la maladie et peut être :

- **Un germe vivant et atténué** (vaccin vivant atténué : oreillons, rougeole, ou tuberculose BCG par exemple)
- **un germe ou une fraction de germe inactivé(e)** (vaccin inactivé), ou une toxine.
- **vaccins recombinants** : Certains vaccins sont produits par **génie génétique** : ils utilisent une cellule animale ou une levure pour la production de l'antigène vaccinal (exemple : hépatite B). Chaque type de vaccin est produit de manière spécifique mais leur fabrication suit, en général, les mêmes étapes

#### 1. Constitution de la banque de germes :

Point de départ du procédé, la banque de germes regroupe des virus ou des bactéries qui doivent garder des propriétés constantes afin de garantir des vaccins de qualité. Le germe doit être très bien caractérisé, notamment sans aucune mutation.

**2. Mise en culture et amplification :**

Il faut parfaitement maîtriser les paramètres de la culture comme la durée, la température, la pression, la composition du milieu de culture, le nombre de germes, l'aération, etc. Certains milieux de multiplication sont constitués de cellules, certaines cultures se font sur des œufs de poule (grippe, fièvre jaune).

**3. Récolte :**

Cette opération consiste à extraire l'antigène que l'on a produit, du milieu de culture.

**4. Purification et concentration :**

Cette opération consiste à enlever toute impureté de la substance et à la concentrer grâce à des procédés physiques (centrifugation par exemple).

**5. Inactivation de la substance produite si nécessaire :**

L'inactivation par la chaleur ou par des agents chimiques comme le formaldéhyde permet de supprimer le pouvoir pathogène tout en gardant les propriétés immunologiques, c'est-à-dire la capacité à déclencher une réponse immunitaire vis-à-vis de l'antigène fabriqué sans pour autant déclencher la maladie.

**6. Fabrication des valences antigéniques :**

Cette étape consiste à rassembler les substances antigéniques en un seul composé, par exemple les trois types du vaccin contre la poliomyélite inactivée.

**2-2 La mise en forme pharmaceutique**

La mise en forme pharmaceutique permet d'obtenir le produit final qui sera proposé en pharmacie.

**1. Assemblage des valences pour les vaccins combinés :**

Les valences sont associées comme par exemple pour le vaccin Diphtérie – Tétanos Poliomyélite - Coqueluche acellulaire.

**2. Formulation :**

Des adjuvants et des stabilisants peuvent être ajoutés : les adjuvants servent à améliorer l'efficacité et augmenter la réponse immunitaire ; les conservateurs et les stabilisants améliorent la stabilité du composé. Des conservateurs peuvent être utilisés dans les présentations multidoses.

**3. Répartition aseptique :**

Le produit est mis en flacon ou en seringue de manière stérile (sans germe inopportun).

**4. Lyophilisation si nécessaire :**

Cette étape permet de retirer l'eau dans un produit en le transformant en poudre, ce qui assure une meilleure stabilité et donc une meilleure conservation.

### **5. Conditionnement :**

Cette étape consiste en l'étiquetage et la mise en boîte sous forme de lots qui représentent un ensemble homogène de fabrication de doses, de 50 000 à 1 million de doses par lot selon le type de vaccin.

### **6. Contrôle et libération des lots :**

Les vaccins ont la particularité de faire l'objet d'un double contrôle : par l'industriel et par une autorité indépendante. Lorsque ces deux contrôles sont satisfaisants, les lots sont libérés et prêts à être commercialisés.

### **7. Livraison des lots dans les pharmacies, hôpitaux, centres de vaccination, etc.**

## **Les différents types des vaccins issus de la biotechnologie :**

### **Vaccins issus des levures**

Contre l'hépatite B : est une maladie du foie causée par le virus HBV (*Hepatitis B Virus*). Le sang d'individus chroniquement contaminés par ce virus présente une particule protéique appelée Hbs. Cette particule n'est pas toxique en elle-même mais elle constitue un inducteur efficace pour la production d'anticorps anti-hépatite B. Cette protéine a été clonée chez *Saccharomyces cerevisiae* et constitue maintenant la source d'antigène pour l'immunisation humaine.

### **Vaccins issus de bactéries recombinantes**

- La vaccination avec le vaccin recombinant *Mycobacterium microti* augmente la protection contre la tuberculose. Ce vaccin induit la réponse immunitaire des lymphocytes T.
- Dix protéines recombinantes issues de *Plasmodium falciparum*, parasite responsable du paludisme, sont produites par *Escherichia coli*. Ces protéines génèrent des anticorps chez le rat.
- *Brucella abortus* est une bactérie Gram-négative pathogène intracellulaire qui infecte les animaux ou les hommes par la voie digestive. Un antigène de *Brucella abortus* est produit dans une bactérie recombinante *Lactococcus lactis*. C'est la première étape vers la production de vaccins vivants contre la brucellose administrable par voie orale.
- Une étude porte sur des essais de vaccination anticancéreuse. Une protéine recombinante constituée d'une enzyme et d'un antigène associé aux tumeurs a été exprimée par une souche *Escherichia coli* recombinante. Injectée à des souris porteuses de tumeurs, la protéine recombinante présente une activité anti-tumorale.

### **Vaccins issus de virus recombinants**

- Des recherches portant sur des vaccins contre le Virus d'Immunodéficience Humaine de type 1 (HIV1) sont en cours : des virus recombinants atténués de la rougeole exprimant des antigènes du virus HIV1 ont été développés. L'immunogénicité de ces vaccins recombinants a été testée chez l'animal. L'objectif de ces recherches serait de développer un vaccin pédiatrique efficace simultanément contre la rougeole et le SIDA.
- Le virus recombinant *Herpes Simplex Virus* type 1 (HSV1) est utilisé comme vecteur pour les vaccins. Cependant, la réponse immune après vaccination est diminuée en cas de séropositivité HSV1.
- Un virus recombinant exprimant une molécule stimulatrice, infecte les cellules dendritiques et stimule ainsi le système immunitaire afin de s'opposer à la croissance des cellules cancéreuses. Il peut être utilisé en immunothérapie anticancéreuse.

### **Vaccins issus de plantes transgéniques**

- Des vaccins peuvent être produits par des plantes transgéniques. Des études portent sur l'essai de développement d'un vaccin comestible contre le papillomavirus humain produit dans la banane. Ces vaccins comestibles ou oraux seraient une voie de vaccination pour les pays en voie de développement.
- Un vaccin oral contre le virus de la gastroentérite transmissible du porc a été mis au point dans des plantes transgéniques.
- Des carottes transgéniques ont été développées pour exprimer un nouvel antigène contre le virus de la rougeole. Cet antigène pourrait être utilisé pour fabriquer un nouveau vaccin.
- Des chloroplastes de tabac transgénique sont utilisés pour exprimer des antigènes afin de développer des vaccins contre le choléra, le charbon bactérien, la peste et le tétanos.

### **Vaccins génétiques**

Le développement des approches moléculaires en biologie permet aujourd'hui d'identifier les gènes responsables de la virulence d'un microorganisme donné. Les recherches actuelles privilégient la mise au point de vaccins « moléculaires » comprenant des antigènes purifiés ou produits par génie génétique ; ils permettent d'induire des réponses immunitaires protectrices et d'éviter d'éventuelles réactions secondaires liées à d'autres composants du microorganisme. Ainsi, les vaccins contre le tétanos et la diphtérie sont aujourd'hui parmi les plus efficaces et les plus sûrs.

- Un vaccin génétique pour protéger contre les morsures de serpents venimeux a été développé. L'alpha-cobratoxine est une neurotoxine présente dans le venin de *Naja kaouthia* (cobra à monocle). Le gène modifié codant pour une toxine non toxique mais immunogène apporte l'immunité protectrice chez la souris.