



UNIVERSITE DES SCIENCES ET DE LA TECHNOLOGIE
HOUARI BOUMEDIENE
FACULTE DES SCIENCES BIOLOGIQUES



Cours de Biotechnologies et
applications
2^{ème} année licence BS

Présentée par:
Dr Radia Chemlal

2022-2023

Chapitre 4

Application des biotechnologies dans le domaine médical

- * *Production d'hormones.*
- * *Production de vaccins.*
- * *Aperçu historique du développement des cultures in vitro.*
- * *Totipotence.*
- * *Culture in vitro et son utilisation.*

Introduction:

La biotechnologie de *protéines humaines* est le secteur des biotechnologies le plus rentable. Les protéines de cellules de mammifères ont une très grande valeur pharmaceutique mais elles sont présentes en très faible quantité dans les tissus normaux ce qui rend leur purification extrêmement onéreuse. De plus, même si ces protéines peuvent être produites par des cultures cellulaires, c'est une voie beaucoup plus coûteuse et difficile que la production par une culture microbienne à fort rendement. En conséquence, l'industrie de la biotechnologie a mis point des microorganismes génétiquement modifiés pour produire ces protéines.

Production de l'insuline: les débuts de la biotechnologie commerciale

La production de l'insuline représenté un véritable challenge pour l'industrie de la biotechnologie. Il s'agit d'un des premiers cas d'exploitation pratique du génie génétique. L'insuline est une hormone pancréatique qui a une utilisation médicale très importante pour le traitement du diabète. Sa production à partir de pancréas des animaux (bœuf et porc) est longue et couteuse. En plus, ce type d'insuline n'est pas aussi efficace que l'insuline humaine. Le clonage du gène de l'insuline humaine dans des bactéries a permis de résoudre ce problème. Le clonage et la production furent d'abord réalisés avec *Escherichia coli* puis de nos jours, avec la levure. L'insuline produite est totalement identique à l'insuline purifiée du pancréas humain.

La forme active de l'insuline est composée de deux polypeptides (A et B) (fig.1 et 2) reliés par des ponts disulfures. Ces deux polypeptides sont codés par des parties séparées du gène de l'insuline. Ce dernier code la préproinsuline, un polypeptide contenant une séquence signal impliquée dans l'excrétion de l'insuline et d'un précurseur: la proinsuline. Dans la proinsuline, les polypeptides A et B sont séparées par un polypeptide composé de 35 acides aminés, polypeptide qui est éliminé au moment de la transformation en insuline.

La proinsuline est formé par transformation de la préproinsuline. La conversion finale en insuline implique un clivage enzymatique du polypeptide de connexion.

L'insuline génétiquement modifiée

Différents approches sont possibles pour la production d'insuline par génie génétique (L'insuline étant une petite protéine relativement petite, le gène entier a pu être synthétisé). Une des plus efficaces (méthode d'Itakura) fait intervenir les étapes suivantes:

- Synthèse séparée des séquences d'ADN correspondant aux chaînes A et B.
- Introduction séparée de ces séquences dans des plasmides.
- Introduction des ces vecteurs dans *Escherichia coli*.
- Cultures des deux souches obtenus avec production des 2 protéines.
- Isolement des peptides A et B par voie chimique (bromure de cyanogène) et synthèse de l'insuline.

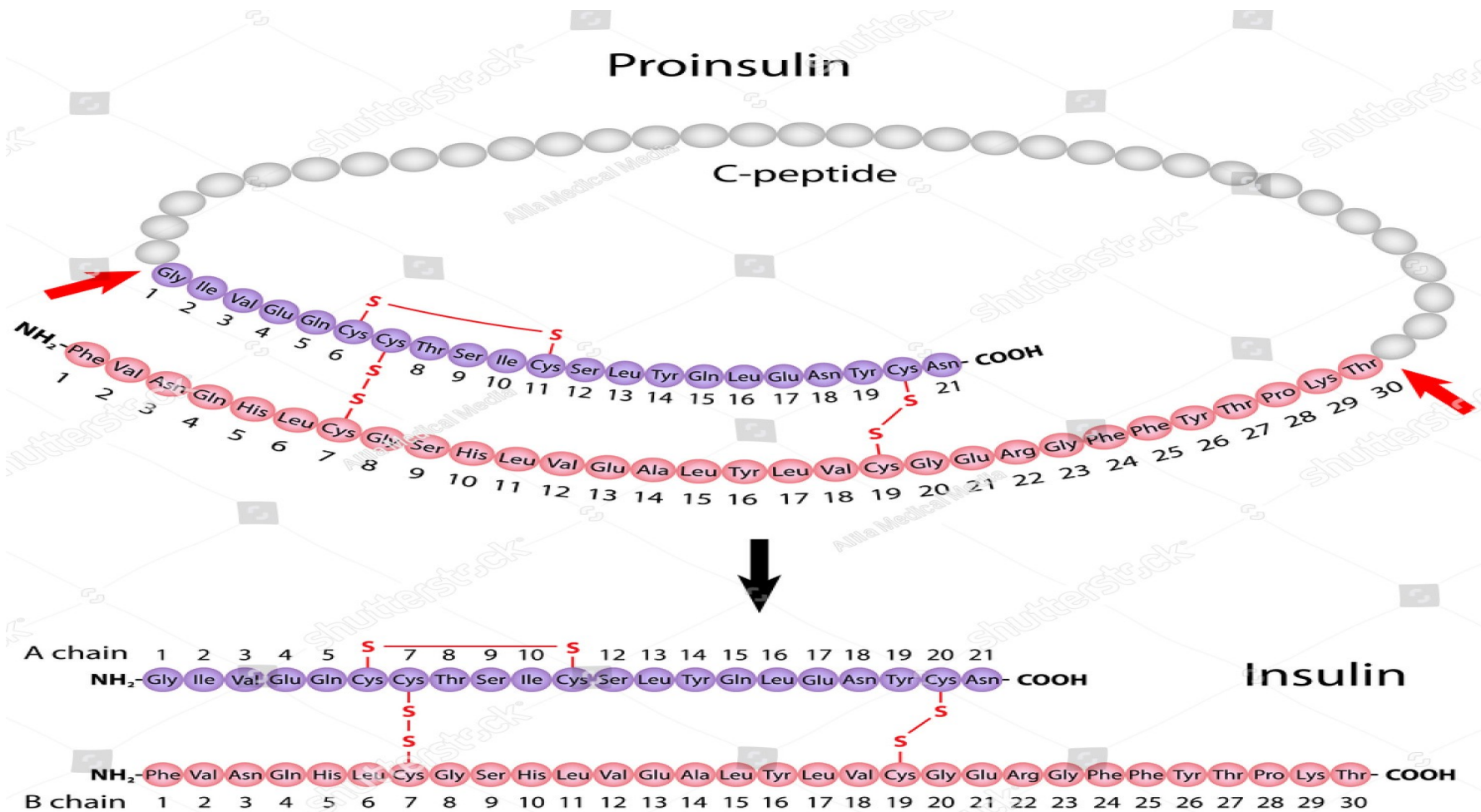


Fig.1. Transformation de la proinsuline en insuline humaine.

https://www.shutterstock.com/shutterstock/photos/147789428/display_1500/stock-photo-insulin-and-proinsulin-147789428.jpg

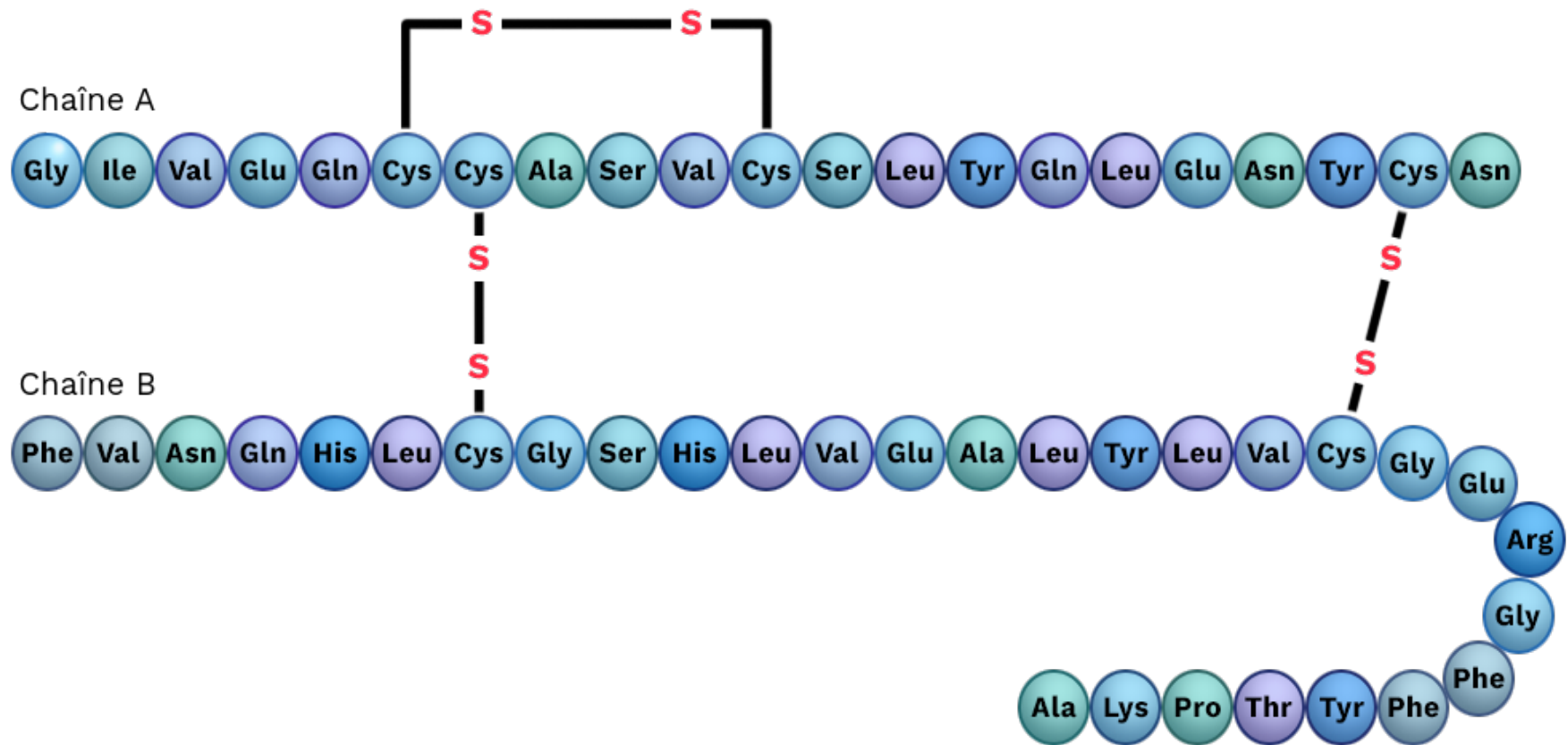


Fig.2. Structure de l'insuline.

<https://theory.labster.com/insuline-structure-fr/>

Production de vaccins

Les vaccinations ont contribué à la forte régression de plusieurs maladies infectieuses graves dans les pays où elles sont largement distribuées. Elles constituent un paradoxe dans le monde de la santé.

La vaccination: c'est la protection d'un individu sain avant qu'il ne contracte une maladie, constitue l'exemple idéal de la prévention primaire.

La vaccination confère au vacciné une protection individuelle et quand le nombre de vaccinés est important, la circulation de l'agent pathogène dans le milieu extérieur est ralentie, et les chances d'être infecté diminuent y compris les non vaccinés. C'est ce qu'on appelle **une immunité collective**.

Lorsque l'agent pathogène ne circule plus, stoppé dans sa progression par l'absence de sujets réceptifs, on peut aboutir à l'éradication mondiale d'une maladie.

Production de vaccins

Historique

- Jenner, en 1796, applique pour la première fois le principe de la vaccination par la vaccine à la lutte contre la variole.
- Pasteur, en 1885, réalise le premier traitement de la rage en postexposition avec son vaccin antirabique.
- Wright, en 1896, expérimente le premier vaccin contre la typhoïde.
- Widal, en 1915, propose la vaccination triple typhoïde et paratyphoïdes A et B.
- Les noms de Behring et Ramon sont associés aux anatoxines diphtériques.
- Calmette et Guérin mettent au point le vaccin tuberculeux dans les années 1920.
- La possibilité de cultiver les virus sur tissus a permis le développement de vaccins tels que les vaccins poliomyélitiques de Salk en 1954, de Sabin en 1957, du vaccin morbilleux de Enders en 1960, contre la rubéole et les oreillons, la rage et la varicelle.
- Les premiers vaccins polysaccharidiques sont élaborés en 1968, et leur conjugaison à des protéines a amélioré leur efficacité chez le jeune enfant.

- Les techniques de génie génétique permettent maintenant de préparer les vaccins contre l'hépatite B en quantité suffisante pour répondre à la demande mondiale.
- Un bilan de l'impact et de l'utilisation de ces vaccins peut être fait. Le dernier cas de variole est déclaré en Somalie en 1977 et la déclaration officielle d'éradication prononcée en 1980, avec abandon de la vaccination. Paradoxalement, depuis le 11 septembre 2001, la vaccination antivariolique prend un nouvel intérêt avec la crainte d'utilisation de certains virus à des fins malveillantes.
- Le programme élargi de vaccination de l'Organisation mondiale de la santé a été lancé en 1974, et le sommet mondial de l'enfant en 1990 a estimé la couverture mondiale par les vaccins indispensables à 80 %. Aucun cas de poliomyélite n'est déclaré dans le continent américain depuis août 1991, ni dans la région OMS du Pacifique Occidental depuis 1999, ni dans la région européenne de l'OMS depuis 2002. La rougeole est sous contrôle dans la région des Amériques.

Efficacité d'un vaccin:

Elle dépend de plusieurs facteurs.

- Présence ou absence d'anticorps.
- Nature et la dose de l'antigène.
- Voies d'administration du vaccin.
- Adjuvants de l'immunité.
- État nutritionnel.

Production de vaccins issus du génie génétique

Les vaccins sont des suspensions de microorganismes pathogènes tués ou modifiés qui, lorsqu'elles sont injectées à un animal, induisant l'immunité vis-à-vis de la maladie provoquée. La substance qui provoque la réponse immunitaire étant le plus souvent une protéine, le génie génétique peut être utilisé pour la production de vaccins.

Les vaccins recombinants vivants atténué

- Dans le cas des *vaccins vivants recombinants*, les souches des micro-organismes sont rendues totalement inoffensives en inactivant ou en éliminant les gènes responsables de leur pouvoir pathogène (les gènes de la virulence). Les bactéries ou virus recombinants sont inoffensifs mais identiques en apparence pour le système immunitaire. Ces vaccins présentent à la fois un intérêt économique car leur coût de production est relativement faible mais aussi un intérêt sécuritaire car le risque de réversion vers la virulence est supprimé.

Il est également possible d'ajouter des gènes à un virus, ce qui engendrera une immunité spécifique à une maladie virale. Par exemple, un virus recombinant est utilisé en élevage de volailles à la fois contre la variole aviaire (*fowlpox*, maladie qui réduit à la fois le gain de poids et la production d'œufs) et à l'encontre de la maladie Newcastle (maladie virale souvent fatale). Pour ce faire, les gènes de virulence ont été enlevés au virus *fowlpox* (mais pas ceux qui provoquent la réponse immunitaire), puis des gènes induisant l'immunité vis-à-vis de la maladie Newcastle lui ont été ajoutés. Il en résulte un *vaccin polyvalent* sous la forme d'un virus qui confère l'immunité à deux maladies.

- Le *virus de la vaccine*, généralement non pathogène pour l'homme, est largement utilisé pour préparer *des virus recombinants*.
- *Les virus de la vaccine recombinants* peuvent porter plusieurs gènes issus de plusieurs virus et constituer ainsi des *vaccins polyvalents*.
- Les vaccins recombinant semblent à la fois suffisamment bénins et immunogènes pour les êtres humains pour conclure que leur utilisation devrait se généraliser dans les prochaines années.

Les vaccins sous unitaires

- Les vaccins sous-unitaires contiennent des fragments (protéines) inoffensifs et purifiés du virus qui ont été choisis précisément pour leur capacité de déclencher une réponse immunitaire. Pour les virus, cette protéine est souvent une protéine d'enveloppe, hautement immunogène.
- Ce type de vaccin est actuellement très répandu, le vaccin contre l'hépatite B est un exemple de vaccin à sous-unité protéique existant.

- La production d'un vaccin sous unitaire comprend les étapes suivantes:
 - Fragmenetation de l'ADN viral par des enzymes de restrictions.
 - Clonage des gènes de protéines de l'enveloppe virale dans un vecteur approprié.
 - Réinsertion et expression des gènes viraux dans un microorganisme.
- Parfois, seuls certains domaines de la protéine sont exprimés puisque les cellules immunitaires et les anticorps ne réagissent qu'avec de petites parties de protéines.
- Des hôtes eucaryotes (levure, les cellules d'insectes et de mammifères) sont utilisées pour préparer les vaccins recombinants, c'est le cas du gène codant une protéine pour la surface de l'hépatite B a été cloné et exprimé dans la levure.

Le futur des vaccins recombinants

- Les vaccins recombinants sont plus sûrs que les vaccins normaux constitués de virus atténués ou tués. La maladie ne risque pas d'être transmise lors de la vaccination.
- Ils sont plus reproductibles car leur composition génétique peut être précisément contrôlée.
- Ils peuvent être administrés à des doses élevées sans danger ni effets secondaires.
- Le temps d'action est primordial, les vaccins recombinants peuvent être préparés 2 à 3 mois comparés aux 6 à 9 mois de préparations des vaccins normaux. La vitesse de préparation d'un vaccin participe à la lutte contre les épidémies provoquées par de nouvelles souches virales.
- Les vaccins recombinants sont moins onéreux que ceux préparés par les méthodes traditionnelles, ce qui constitue aussi un avantage de santé publique.

Les vaccins à ADN ou à ARN

Bien que les vaccins traditionnels et recombinants aient été extrêmement efficaces pour lutter contre diverses maladies infectieuses, ces vaccins sont parfois difficile à produire comme dans le paludisme et le SIDA.

La vaccination utilisant des acides nucléiques s'est développée au cours des dernières décennies. Elle représente une méthode prometteuse et particulièrement attractive pour prévenir ou guérir des maladies infectieuses ou cancéreuses. Les vaccins à base d'acides nucléiques reposent essentiellement sur deux types de molécules, ADN et ARN messenger (ARNm), qui, lorsqu'elles sont injectées chez un individu, permettent la synthèse de la protéine immunogénique.

Les vaccins à ADN

Les vaccins à ADN sont composés d'une simple molécule d'ADN plasmidique circulaire fermée, contenant un gène codant la protéine immunogénique. Cette technique d'ADN plasmidique est peu coûteuse, robuste, simple d'utilisation, et possède un excellent profil d'innocuité lors des différents essais cliniques. Cependant, les résultats prometteurs obtenus chez les petits animaux n'ont pas été reproduits chez l'homme. Dans un premier temps, cela a été attribué à une expression insuffisante de l'immunogène codé par l'ADN chez l'individu vacciné. Les travaux de plusieurs groupes de recherche ont permis d'augmenter la quantité d'immunogène produite, et ainsi d'accroître progressivement l'immunogénicité des vaccins à ADN : stratégies d'optimisation du squelette de l'ADN plasmidique, mais aussi mise au point de nouvelles méthodes d'administration de ces vaccins telles que l'électroporation du tissu d'injection. Cependant, ces améliorations n'ont pas permis d'atteindre le niveau d'immunogénicité souhaité chez l'homme, ce qui a motivé la mise au point de méthodes plus appropriées pour renforcer la réponse immunitaire induite par les vaccins à ADN.

Quatre vaccins à ADN ont reçu les autorisations réglementaires nécessaires à leur exploitation commerciale pour protéger les saumons d'élevage contre la nécrose hématoïétique infectieuse et contre une maladie du pancréas due à un sous-type d'alphavirus, les poulets contre la grippe aviaire, et pour traiter des chiens atteints d'un mélanome buccal.

Les vaccins à ARNm

- Les vaccins à ARNm utilisent des molécules linéaires comportant une extrémité 5' pourvue d'une coiffe protégeant l'ARNm et recrutant le ribosome, la séquence codant l'immunogène, et une extrémité 3' constituée d'une séquence de polyadénosine augmentant la stabilité des molécules. Les molécules d'ARNm sont produites par transcription enzymatique *in vitro* à partir d'ADN plasmidique. Le procédé de production des vaccins à ARNm comporte donc une étape supplémentaire par rapport à la production de vaccins à ADN, qui utilisent directement les molécules d'ADN plasmidique produites. Les molécules d'ARNm sont environ 5 fois plus petites que les molécules d'ADN utilisées pour la vaccination.
- L'ARNm contenu dans les vaccins contre la Covid-19, comme ceux de BioNTech-Pfizer, Moderna ou CureVac, est encapsulé dans des particules de lipides, sans adjuvant chimique. Cet ARNm sera converti en protéine S (Spike) qui se retrouve sur l'enveloppe du virus Sars-Cov-2, ce qui déclenchera une réponse immunitaire.

Références et webographie

- **Madigan , M; Martinko, M (2007). Brock Biologie des microorganismes.** Traduction française coordonnée par Daniel Prieur. 1047p. Pearson Education.
- **Scriban. R., (1999), Biotechnologie.** 1042p. 5^e édition, Editions TEC et DOC.
- **Guérin. N (2005). Vaccinations.** EMC-Pédiatrie 2, 65–95.
- <http://acces.ens-lyon.fr/acces/thematiques/immunité-et-vaccination/thematiques/reponse-immunitaire/comprendre/pageaccueilvaccins/vaccinsvivantsrecombinants>.
- <https://www.canada.ca/fr/santé-canada/services/medicaments-produits-santé/covid19-industrie/medicaments-vaccins-traitements/vaccins/sous-unitaires-base-proteine.html>.
- https://www.medecinesciences.org/en/articles/medsci/full_html/2019/09/msc190192/msc190192.html.
- <https://professionnels.vaccination-info-service.fr/FAQ/Repondre-aux-questions-sur-la-vaccination-COVID/Qu-est-ce-qu-un-vaccin-ARN-messager>.
- <https://professionnels.vaccination-info-service.fr/FAQ/Repondre-aux-questions-sur-la-vaccination-COVID/Quels-sont-les-differents-types-de-vaccins-contre-la-COVID-19-et-comment-fonctionnent-ils>.