

## Faculté de Pharmacie

Année 2024

Thèse N°

Thèse pour le diplôme d'État de docteur en Pharmacie

Présentée et soutenue publiquement

le 11 décembre 2024

Par

**Maxime PALLIER**

**Médicaments issus de biotechnologie : état des lieux réglementaires, économiques et technologiques dans le contexte français**

Thèse dirigée par Patrick TROUILLAS

Examineurs :

M. Serge Battu, Professeur des Universités, Université de Limoges Président du jury

M. Patrick Trouillas, Professeur des Universités, Université de Limoges Directeur

M. David Léger, Professeur des Universités, Université de Limoges Juge

Mme. Aude Carrié, Ingénieur en biotechnologie, Global Project Manager, AelisFarma

Juge







## Faculté de Pharmacie

Année 2024

Thèse N°

Thèse pour le diplôme d'État de docteur en Pharmacie

Présentée et soutenue publiquement

le 11 décembre 2024

Par

**Maxime PALLIER**

**Médicaments issus de biotechnologie : état des lieux réglementaires, économiques et technologiques dans le contexte français**

Thèse dirigée par Patrick TROUILLAS

Examineurs :

M. Serge Battu, Professeur des Universités, Université de Limoges Président du jury

M. Patrick Trouillas, Professeur des Universités, Université de Limoges Directeur

M. David Léger, Professeur des Universités, Université de Limoges Juge

Mme. Aude Carrié, Ingénieur en biotechnologie, Global Project Manager, AelisFarma Juge



# Personnel enseignant de la Faculté de Pharmacie de Limoges

---

Dernière liste à jour sur :

[https://aurore.unilim.fr/theses/nxfile/default/04019d8f-6e94-499c-8fb5-7f1c2ac7d86b/blobholder:0/liste\\_enseignants\\_pharmacie.docx](https://aurore.unilim.fr/theses/nxfile/default/04019d8f-6e94-499c-8fb5-7f1c2ac7d86b/blobholder:0/liste_enseignants_pharmacie.docx)

Le 1<sup>er</sup> octobre 2024

## **Doyen de la Faculté**

**Monsieur le Professeur COURTIOUX Bertrand**

## **Vice-doyen de la Faculté**

**Monsieur le Professeur LÉGER David**

## **Assesseurs de la Faculté**

**Monsieur le Professeur BATTU Serge, Assesseur pour la Formation Continue**

**Monsieur le Professeur PICARD Nicolas, Assesseur pour l'Innovation Pédagogique**

## **Professeurs des Universités – Hospitalo-Universitaires**

<b>M. BARRAUD Olivier</b>	Microbiologie, parasitologie, immunologie et hématologie
<b>M. JOST Jérémy</b>	Chimie organique, thérapeutique et pharmacie clinique
<b>M. PICARD Nicolas</b>	Physiologie et pharmacologie
<b>Mme ROGEZ Sylvie</b> (jusqu'au 01/07/2025)	Microbiologie, parasitologie, immunologie et hématologie
<b>M. SAINT-MARCOUX Franck</b>	Toxicologie

## **Professeurs des Universités – Universitaires**

<b>M. BATTU Serge</b>	Chimie analytique et bromatologie
<b>M. COURTIOUX Bertrand</b>	Microbiologie, parasitologie, immunologie et hématologie
<b>M. DUROUX Jean-Luc</b>	Biophysique et mathématiques
<b>Mme FAGNÈRE Catherine</b>	Chimie organique, thérapeutique et pharmacie clinique

<b>M. LÉGER David</b>	Biochimie et biologie moléculaire
<b>M. LIAGRE Bertrand</b>	Biochimie et biologie moléculaire
<b>Mme MAMBU Lengo</b>	Pharmacognosie
<b>Mme POUGET Christelle</b>	Chimie organique, thérapeutique et pharmacie clinique
<b>M. TROUILLAS Patrick</b>	Biophysique et mathématiques
<b>Mme VIANA Marylène</b>	Pharmacie galénique

### **Maitres de Conférences des Universités – Hospitalo-Universitaires**

<b>Mme. CHAUZEIX Jasmine</b>	Microbiologie, parasitologie, immunologie et hématologie
<b>Mme DEMIOT Claire-Élise (*)</b>	Physiologie et pharmacologie

### **Maitres de Conférences des Universités – Universitaires**

<b>Mme AUDITEAU Émilie</b>	Chimie organique, thérapeutique et pharmacie clinique
<b>Mme BEAUBRUN-GIRY Karine</b>	Pharmacie galénique
<b>Mme BÉGAUD Gaëlle (*)</b>	Chimie analytique et bromatologie
<b>M. BILLET Fabrice</b>	Physiologie et pharmacologie
<b>Mme BONAUD Amélie</b>	Microbiologie, parasitologie, immunologie et hématologie
<b>M. CALLISTE Claude</b>	Biophysique et mathématiques
<b>M. CHEMIN Guillaume</b>	Biochimie et biologie moléculaire
<b>Mme CLÉDAT Dominique</b>	Chimie analytique et bromatologie
<b>M. COMBY Francis</b>	Chimie organique, thérapeutique et pharmacie clinique
<b>Mme DAMOUR Alexia</b>	Microbiologie, parasitologie, immunologie et hématologie
<b>M. FABRE Gabin</b>	Biophysique et mathématiques
<b>M. LABROUSSE Pascal (*)</b>	Botanique et cryptogamie
<b>Mme LAVERDET Betty</b>	Pharmacie galénique

<b>M. LAWSON Roland</b>	Physiologie et pharmacologie
<b>Mme MARRE-FOURNIER Françoise</b>	Biochimie et biologie moléculaire
<b>M. MERCIER Aurélien</b>	Microbiologie, parasitologie, immunologie et hématologie
<b>Mme MILLOT Marion (*)</b>	Pharmacognosie
<b>Mme PASCAUD-MATHIEU Patricia</b>	Pharmacie galénique
<b>M. TOUBLET François-Xavier</b>	Chimie organique, thérapeutique et pharmacie clinique
<b>M. VEDRENNE Nicolas</b>	Toxicologie
<b>M. VIGNOLES Philippe (*)</b>	Biophysique et mathématiques

**(\*) Titulaire de l'Habilitation à Diriger des Recherches (HDR)**

#### **Professeur associé en service temporaire**

<b>M. FOUGÈRE Édouard</b>	Chimie organique, thérapeutique et pharmacie clinique
---------------------------	---

#### **Assistant Hospitalo-Universitaire des disciplines pharmaceutiques**

<b>Mme MARCELLAUD Élodie</b>	Chimie organique, thérapeutique et pharmacie clinique
------------------------------	---

#### **Attachés Temporaires d'Enseignement et de Recherche**

<b>Mme RAKOTOMANGA Iharilanto Patricia Andrianjafy</b>	Chimie analytique et bromatologie
<b>Mme SALMI Djouza</b>	Pharmacognosie, Botanique et Mycologie

#### **Enseignants d'anglais**

<b>M. HEGARTY Andrew</b>	Chargé de cours
<b>Mme VERCELLIN Karen</b>	Professeur certifié

#### **Professeur émérite**

<b>M. DESMOULIÈRE Alexis</b> (à partir du 05/10/2024)	Physiologie et pharmacologie
--	------------------------------

## Remerciements

---

### **A mon directeur de thèse, Monsieur le Professeur Patrick Trouillas,**

Je vous exprime ma profonde gratitude pour avoir accepté de m'encadrer, vos précieux conseils et votre patience tout au long de ce parcours doctoral. Je vous remercie également pour ces années d'enseignement que vous avez su magnifier d'un art qui est le vôtre et ce dès la première année. Je vous souhaite plein de réussite dans vos nombreux projets mais je ne me fais pas trop de soucis.

### **Au président du jury, Monsieur le Professeur Serge Battu,**

Je vous remercie de me faire l'honneur de présider mon jury ainsi que pour ces années d'enseignements. Je ne suis certainement pas près d'oublier la chromato. Je vous souhaite également plein de réussite dans votre startup récemment créée.

### **Au membre mon jury, Monsieur le Professeur David Léger,**

Je pense que vous êtes le professeur ayant le domaine d'enseignement qui rentre le plus dans le spectre de ma thèse et je me devais de vous inviter en tant que membre de jury. Vous avez accepté et je vous en remercie de même que pour la qualité de votre enseignement calme et posé. Plein de réussite pour vous également dans vos projets quel qu'ils soient.

### **A toi Aude, membre de mon jury,**

Après c'est quelques années à tes côtés et étant donné ta connaissance il était évident pour moi que je devais te convier au jury. Merci de m'avoir donné la chance de mettre ce premier pas dans la gestion de projet. La fin a été quelque peu mouvementée mais on ne retiendra que le meilleur. Tu as su rebondir et te voilà repartie, bonne chance pour ta nouvelle vie.

### **A tous ceux qui m'ont accueilli professionnellement,**

Je pense à vous et vous remercie chaleureusement, l'équipe de la pharmacie de Verneuil, le service de Radiopharmacie, le service de Biochimie et de Génétique Moléculaire et le service de Pharmacovigilance du CHU. Merci à tous pour votre sympathie et l'ensemble des connaissances que vous m'avez apportées.

L'équipe d'InSiliBio, Maxime et Benjamin, merci pour votre immense sympathie et ce stage d'initiation à la recherche il fut des plus gratifiant. Merci également, Maxime, d'avoir accepté que je te pose quelques questions pour cette thèse.

Aux différents services de Catalent dans lesquels j'ai pu travailler à commencer par l'équipe qualité que j'ai rejoint pour mon stage de cinquième année, et plus particulièrement le CSV qui m'a accueilli dans son chaleureux bureau. C'est ici que j'ai pu vous rencontrer Alan et Avto, la fine équipe, trois ans et demi déjà... la bonne époque. Puis il y a eu Lucie que je remercie d'avoir relu une partie de ma thèse. Ensuite il y a le service de gestion de projet, Hervé, Loup, Matthieu, Alex, Romain, Sophie. Merci à vous d'avoir grandement contribué à ce que je suis aujourd'hui. Plus récemment, Sina et Clémence merci pour ces bons moments. Enfin tous les autres je ne vous oublie pas mais je ne peux pas dresser une liste exhaustive ça serait trop long, merci à vous d'avoir pleinement contribué à ma réussite professionnelle.

### **A tous ceux que j'ai pu côtoyer durant mes études,**

A commencer par tous les enseignants et plus généralement tout le personnel de la faculté, c'est avec une pointe de nostalgie que je vous remercie.

Sur les bancs des amphis ou sur une paillasse de TP, mes camarades de promo et d'autre promo, Paul, Louis, Romain, Noémie ... je ne peux également pas citer toute la promotion mais merci à tous pour ces années.

A mes amis du master BMTI de Nantes, Léo, Simon, Charlène, Romain et les autres, nous ne nous sommes pas vus depuis un certain temps mais qu'est-ce qu'elle fut riche en émotion cette année. Merci à vous.

### **A ma famille et mes proches,**

A mes parents, mon frère, ma sœur merci pour votre accompagnement au cours de ces longues études, ça y est c'est fini, enfin.

Mamie, tu y as toujours cru ou plutôt tu l'as toujours su, mes études touchent à leur but.

Laure, merci de m'avoir proposé ce stage, sans ça je n'en serai pas là aujourd'hui.

Tous les autres membres de ma famille je vous remercie également vous avez indéniablement contribué à ma réussite. Merci également à ma belle-famille de m'avoir accueilli.

Je souhaite également exprimer ma gratitude à mes amis d'enfance, Benjamin, Benjamin et Jules qui ont toujours été là pour moi, même dans les moments les plus difficiles, après toutes ces années, merci.

## **A toi, Léa,**

Il est loin le temps de notre rencontre, mais je m'en souviens comme si c'était hier. Je tiens à t'exprimer ma plus profonde gratitude, ton amour et ton soutien indéfectible ont été des sources inestimables de force tout au long de ce parcours. Ta patience, ta compréhension et tes encouragements m'ont permis de surmonter les défis que j'ai rencontrés. Les moments passés ensemble, que ce soit lors de longues nuits d'étude ou de moments de détente bien mérités, ont été essentiels pour garder le cap. Merci d'avoir cru en moi et d'avoir partagé cette aventure ; je ne pourrais pas imaginer ce chemin sans toi à mes côtés. Tu as déjà admirablement passé ta thèse et je m'apprête moi aussi à passer cette étape. Merci de partager ma vie. Je t'aime.

## Droits d'auteurs

---

Cette création est mise à disposition selon le Contrat :

« **Attribution-Pas d'Utilisation Commerciale-Pas de modification 4.0 France** »

disponible en ligne <https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0>



## Liste des abréviations

---

AA - Acide Aminé

AAP - Autorisation d'Accès Précoce

AAV - Virus Adéno-Associé

AAVr - Virus Adéno-Associé recombinant

ADN - Acide DésoxyriboNucléique

AMM - Autorisation de Mise sur le Marché

ANSM - Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des produits de santé

ARN - Acide RiboNucléique

ARNm - Acide RiboNucléique messenger

ATC - Anatomique, Thérapeutique et Chimique

ATU - Autorisation Temporaire d'Utilisation

CAR-T - Chimeric Antigen Receptor T-cell

CD3 - Cluster of Differentiation 3

CD4 - Cluster of Differentiation 4

CHMP - Committee for Medicinal Products for Human Use (Comité des médicaments à usage humain)

CICo - Crédit d'Impôt Collaboration de Recherche

CIR - Crédit d'Impôt Recherche

DCI - Dénomination Commune Internationale

EMA - European Medicines Agency (Agence Européenne des Médicaments)

EPAR - Rapport d'Évaluation Public Européen

HAT - Hypoxanthine-Aminoptérine-Thymidine

HDR - Habilitation à Diriger des Recherches

IgG - Immunoglobuline G

JEC - Jeune Entreprise de Croissance

JEI - Jeune Entreprise Innovante

OCDE - Organisation de Coopération et de Développement Économiques

PCR - Polymerase Chain Reaction

PGR – Plan de Gestion de Risques

PRIME - Priority Medicines

PRAC - Pharmacovigilance Risk Assessment Committee (Comité d'évaluation des risques de pharmacovigilance)

R&D - Recherche et Développement

RT-PCR - Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction

scFv - Single Chain Fragment Variable

SIDA - Syndrome d'immunodéficience acquise

TCR - T Cell Receptor (récepteur des cellules T)

VIH - Virus de l'Immunodéficience Humaine

## Table des matières

---

Introduction.....	20
I. Les fondements de la biotechnologie.....	21
I.1. Définition de la biotechnologie.....	21
I.1.1. La biotechnologie.....	21
I.1.2. Les différents types de biotechnologie.....	21
I.1.3. Historique(7–9).....	23
I.1.3.1. Biotechnologie ancienne.....	23
I.1.3.2. Biotechnologie classique.....	23
I.1.3.3. Biotechnologie moderne.....	24
I.1.4. Quelques notions.....	26
I.1.4.1. Les acides nucléiques.....	26
I.1.4.1.1. Techniques d'étude des acides nucléiques.....	27
I.1.4.1.1.1. L'électrophorèse.....	27
I.1.4.1.1.2. La PCR et RT-PCR.....	28
I.1.4.1.1.3. Le séquençage.....	29
I.1.4.2. Les protéines.....	29
I.1.4.2.1. La structure des protéines.....	29
I.1.4.2.2. La synthèse des protéines.....	32
I.1.4.2.3. Les fonctions biologiques des protéines.....	36
I.1.4.3. Les plasmides.....	38
I.1.4.4. Le transfert de matériel génétique.....	38
II. Des technologies majeures parmi les médicaments issus des biotechnologies.....	40
II.1. Les médicaments à base de protéines recombinantes.....	40
II.1.1. Le choix du système d'expression.....	41
II.1.2. L'insertion du gène et clonage.....	41
II.1.3. Les banques cellulaires.....	43
II.1.3.1. La Master Cell Bank.....	43
II.1.3.2. La Working Cell Bank.....	44
II.1.4. L'Upstream Process.....	45
II.1.5. Le Downstream Process.....	46
II.1.6. La mise sous forme pharmaceutique.....	48
II.1.7. Les principales différences avec les médicaments dits « classiques ».....	48

II.1.8. Exemples et historique d'utilisation de protéines recombinantes .....	52
II.1.9. Les mécanismes d'action des médicaments à base de protéines recombinantes	53
II.1.10. Les avantages et inconvénients.....	53
II.2. Les anticorps monoclonaux .....	55
II.2.1. La structure d'un anticorps.....	56
II.2.2. Le mode d'action.....	58
II.2.3. Le processus d'obtention des anticorps monoclonaux .....	59
II.2.3.1. Les anticorps monoclonaux chimérique .....	62
II.2.3.2. Le phage display .....	63
II.2.4. Vers des formats plus sophistiqués .....	65
II.3. Les thérapies cellulaires et géniques.....	68
II.3.1. Les principes de base des thérapies cellulaires et géniques .....	68
II.3.1.1. La thérapie cellulaire .....	68
II.3.1.1.1. Définition et concept .....	68
II.3.1.1.2. Les types de cellules utilisées.....	69
II.3.1.1.3. Les mécanismes d'action en thérapie cellulaire .....	69
II.3.1.2. La thérapie génique.....	71
II.3.1.2.1. Définition et concept .....	71
II.3.1.2.2. Les approches in vivo et ex vivo .....	72
II.3.1.2.3. Vecteurs de transfert de gènes.....	73
II.3.1.2.4. Les techniques d'édition génomique.....	73
II.3.1.2.5. L'application clinique.....	74
II.4.1.1. Les CAR-T : une convergence des thérapies cellulaires et géniques .....	75
II.4.1.1.1. Concept et développement des CAR-T .....	75
II.4.1.1.2. Structure et fonction du récepteur antigénique chimérique (CAR) : .....	76
II.4.1.1.3. Processus de production des CAR-T.....	77
II.4.1.1.3.1. Immunothérapie autologue ou allogénique ? .....	77
II.4.1.1.3.2. L'effecteur.....	78
II.4.1.1.3.3. La transduction.....	79
II.4.1.1.3.4. La cible .....	80
II.4.1.1.4. Les limites et l'avenir.....	80
III. Les médicaments issus des biotechnologies : état des lieux en France .....	82
III.1. Le marché des médicaments issus des biotechnologies en France .....	82

III.2. Les politiques publiques relatives aux médicaments issus des biotechnologies en France.....	84
III.2.1. France 2030 .....	84
III.2.2. Le Crédit d'Impôt Recherche (CIR).....	86
III.2.3. Le Crédit d'Impôt Collaboration de Recherche (CICo).....	86
III.2.4. Le statut de Jeune Entreprise de Croissance (JEC) et Jeune Entreprise Innovante (JEI).....	86
III.3. Les autorisations de mise sur le marché (AMM) des médicaments issus des biotechnologies en France.....	87
III.3.1. Qu'est-ce que l'AMM ? .....	87
III.3.1.1. Le contenu du dossier de demande d'AMM .....	89
III.3.1.2. Les étapes du processus d'AMM .....	89
III.3.1.3. L'importance de l'AMM .....	90
III.3.2. Le cas des médicaments biologique et plus particulièrement des Médicaments de Thérapie Innovante .....	90
III.4. Les leviers d'accélération de mise sur le marché(115).....	96
III.4.1. La procédure d'évaluation accéléré .....	96
III.4.2. L'AMM conditionnelle(115) .....	96
III.4.3. L'AMM sous circonstance exceptionnelle(119).....	97
III.4.4. Le programme PRIME(121).....	98
III.4.5. L'Autorisation Temporaire d'Utilisation .....	99
III.4.5.1. L'accès compassionnel .....	102
III.4.5.2. L'Autorisation d'Accès Précoce (AAP) .....	102
III.6. L'analyse du marché.....	103
III.6.1. Une croissance des médicaments biologiques .....	104
III.6.2. La stabilité des médicaments chimiques traditionnels .....	104
III.6.3. Les nouveaux médicaments chimiques avancés.....	105
III.6.4. Les tendances émergentes.....	105
III.6.5. Une transition progressive .....	105
III.6.6. L'impact économique .....	105
III.7. Entretien avec un acteur du milieu .....	106
III.7.1. L'impact des plans de relance et situation économique .....	106
III.7.2. Les soutiens gouvernementaux .....	106
III.7.3. Les principaux défis économiques .....	107
III.7.4. Les perspectives et l'adaptabilité .....	107

III.7.5. Le soutien gouvernemental aux start-up : un rouage complexe .....	107
Conclusion.....	108
Références bibliographiques.....	111
Serment De Galien.....	122

## Table des illustrations

---

Figure 1 Comparaison entre un simple brin d'ARN (à gauche) et une double hélice d'ADN (à droite), avec les correspondances en nucléotides (et bases azotées)(10) .....	26
Figure 2 Principe de la réaction en chaîne par polymérase (PCR)(13).....	28
Figure 3 Structure d'une protéine en formule développée plane .....	30
Figure 4 Configuration d'une protéine liée par liaison peptidique et principe de la formation de cette liaison(18).....	30
Figure 5 Structure quaternaire d'une protéine, exemple de l'hémoglobine(19).....	31
Figure 6 Représentation schématique des 4 niveaux de structure d'une protéine(20).....	32
Figure 7 Étapes de la synthèse d'une protéine(21).....	34
Figure 8 Principales modifications post-traductionnelles d'une protéine(22) .....	35
Figure 9 Plasmides au sein d'une bactérie(25).....	38
Figure 10 La production de protéines thérapeutiques via la technique de l'ADN recombinant (26).....	40
Figure 11 Schéma d'expérience de clonage d'un gène tiré de bioutils.ch(27).....	42
Figure 12 Illustration de la constitution d'un système de banque cellulaire propre aux médicaments biologiques(29) .....	44
Figure 13 Schéma d'un exemple de procédé Upstream et Downstream de bioproduction (33) .....	47
Figure 14 Comparaison entre différentes protéines et une molécule classique d'aspirine en fonction e la masse moléculaire relative (34).....	49
Figure 15 Quelques-uns des nombreux facteurs qui influencent l'immunogénicité des produits biopharmaceutique(38) .....	51
Figure 16 Structure schématique d'une immunoglobuline IgG(50) (©Pearson Education 2004) .....	56
Figure 17 Voie de synthèse des nucléotides schématisé en rapport avec le milieu HAT .....	60
Figure 18 Principe de sélection des hybridomes en milieu sélectif HAT.....	60
Figure 19 Les 4 types d'anticorps monoclonaux en fonction du degré de chimérisme. Le suffixe utilisé dans la dénomination commune internationale (DCI) est caractéristique de ce degré. L'immunogénicité décroît, en principe, avec la réduction de la partie murine(63) .....	63
Figure 20 Représentation du fragments variables simple chaîne (scFv)(64).....	64
Figure 21 Représentation schématique d'un phage M13 avec le gène codant pour le fragment scFv dans son génome et l'exprimant sur une protéine de surface g3p(65).....	64
Figure 22 Représentation schématique d'un anticorps bispécifique(73).....	66
Figure 23 Représentation d'un anticorps conjugué(76) .....	67
Figure 24 Représentation schématique d'une immunocytokine(79) .....	67

Figure 25 Définition schématique de la thérapie génique .....	71
Figure 26 Représentation schématique des deux voies de la thérapie génique(84) .....	72
Figure 27 Les vecteurs en thérapie génique .....	73
Figure 28 Principe de la thérapie par CAR-T .....	75
Figure 29 Activation d'un lymphocyte T classique(90) .....	76
Figure 30 Représentation du complexe TCR-CD3 et son corécepteur CD4(91) .....	76
Figure 31 Liaison d'une cellule T possédant un récepteur chimérique à l'antigène avec une cellule cancéreuse.....	77
Figure 32 Les limites de l'immunothérapie par CAR-T contre les tumeurs solides(97) .....	81
Figure 33 Le parcours du médicament.....	87
Figure 34 Comparaison des 2 types d'accès dérogatoire aux médicaments à la suite de la réforme de 2021 .....	101
Figure 35 Graphique représentant le top 10 des molécules avec le montant de remboursement le plus élevé par année de 2016 à 2023 .....	104

## Table des tableaux

---

Tableau 1 Indicateurs sur la maturité des entreprises de biotechnologie française .....	83
Tableau 2 Exemple de classification ATC.....	103

## Introduction

---

Les médicaments issus des biotechnologies représentent aujourd'hui une révolution dans le domaine pharmaceutique, offrant de nouvelles perspectives thérapeutiques pour de nombreuses pathologies jusqu'alors difficiles à traiter. Cette thèse se propose d'explorer en profondeur ce domaine en pleine expansion, en se concentrant particulièrement sur le contexte français. Elle s'articule autour de la problématique suivante : Comment les médicaments issus des biotechnologies transforment-ils le paysage pharmaceutique français, entre développement réglementaire, innovation technologique et enjeux économiques ?

Pour répondre à cette question, cette thèse s'organise en trois parties principales. Elle débute par un examen des fondements de la biotechnologie, retraçant son évolution historique depuis ses origines jusqu'à ses applications les plus modernes.

Le monde de la biotechnologie étant vaste, nous nous concentrerons sur quatre catégories majeures de biomédicaments : les médicaments à base de protéines recombinantes, les anticorps monoclonaux, et enfin les thérapies cellulaires et géniques regroupés en un seul chapitre. Pour chacune de ces catégories, nous examinerons en détail les processus de production, les mécanismes d'action, et les applications thérapeutiques, en mettant en lumière les avancées récentes et les défis à relever.

Enfin, nous aborderons le cadre réglementaire et économique des biomédicaments en France, en analysant les politiques publiques qui encadrent et stimulent ce secteur innovant, ainsi que les processus réglementaires spécifiques à ces médicaments, notamment les procédures d'autorisation de mise sur le marché et les leviers d'accélération.

Cette thèse vise à fournir une compréhension approfondie des enjeux scientifiques, réglementaires et économiques liés aux médicaments issus des biotechnologies en France. En explorant les innovations actuelles et les perspectives à venir, nous espérons contribuer à une meilleure compréhension de l'impact transformateur des biotechnologies sur la médecine moderne et le système de santé français.

# I. Les fondements de la biotechnologie

---

## I.1. Définition de la biotechnologie

### I.1.1. La biotechnologie

Le terme biotechnologie apparaît pour la première fois en 1917(1) dans un article où Károly Ereky, ingénieur agricole hongrois, décrit son usine d'engraissement de porc. Il avait fondé la plus grande ferme d'engraissement de porcs au monde, prévue pour accueillir 50 000 porcs. Il considérait les porcs comme des « Machines de travail biotechnologique » transformant les betteraves sucrières en graisse et en viande. Deux ans plus tard, il publiera un livre intitulé *Biotechnologie der Fleisch-, Fett-, und Milcherzeugung im landwirtschaftlichen Grossbetriebe : für naturwissenschaftlich gebildete Landwirte verfasst* (Biotechnologie de la production de viande, de graisse et de lait dans les grandes exploitations agricoles : rédigé à l'intention des agriculteurs ayant une formation scientifique). Ce livre décrit sa philosophie pour un monde d'après-guerre, mettant en perspective la biochimie des animaux, y compris la théorie des hormones.(2) Ereky peut être considéré comme le père de la biotechnologie. Selon lui, la nouvelle compréhension biologique de la physiologie et de la biochimie des animaux a ouvert la voie à une approche scientifique de l'artisanat traditionnel de l'élevage. Il a proposé le mot "biotechnologie" pour couvrir le domaine de la technologie associée aux êtres vivants.

Étymologiquement, le terme biotechnologie viendrait du grec, βίος (bíos) pour la vie, τέχνη (tékhnhê) pour la technique, et λόγος (lógos) pour la parole, du verbe λέγω légô parler sensément. (3) La biotechnologie est défini par l' Organisation de Coopération et de Développement Économiques (OCDE) (4) comme étant : « L'application de la science et de la technologie à des organismes vivants, de même qu'à ses composantes, produits et modélisations, pour modifier des matériaux vivants ou non-vivants aux fins de la production de connaissances, de biens et de services. » On peut résumer cette définition à l'utilisation d'organismes vivants à des fins de production, par exemple la production de pain de vin ou encore de bière. Ce sont parmi les premières applications de la biotechnologie mais les domaines d'applications sont nombreux et en constante évolution.

### I.1.2. Les différents types de biotechnologie

La biotechnologie, en tant que domaine vaste et diversifié, utilise un système de codage couleur pour simplifier la classification des domaines similaires. En effet, ce codage permet de cadrer l'étendue de la biotechnologie facilitant la recherche ciblée d'articles et éliminant le besoin de plusieurs mots-clés spécifiques. Par exemple, lors de la recherche d'avancées en biotechnologie liée à la santé, une requête sur la "biotechnologie rouge" peut fournir plus de résultats pertinents qu'une recherche avec plusieurs mots-clés tels que médecine, santé, vaccins, produits biologiques. Généralement, quatre à cinq couleurs majeures sont considérées, à savoir le rouge, le vert, le blanc, le bleu et le jaune. Cependant, des classifications utilisant de nombreuses autres couleurs existent. Certaines des couleurs décrivent des gammes très larges et bien développées d'activités biotechnologiques comme la biotechnologie rouge qui correspond au domaine de la santé, tandis que d'autres sont dédiées à des branches qui n'en sont encore qu'à leurs débuts.

De manière assez évidente, différents auteurs et institutions présentent différentes classifications qui ne sont pas nécessairement les mêmes. Par exemple, de nombreuses sources littéraires regroupent sous le nom de "biotechnologie blanche" à la fois les processus industriels et le génie environnemental, tandis que d'autres divisent ces deux branches sous les codes blanc et gris. Même si le code couleur a été largement adopté, des améliorations sont possibles. Un soutien à un code couleur officiel, avec des catégories clairement définies, pourrait accroître l'efficacité en minimisant la confusion résultant des adaptations diverses du code. Certaines branches sont amenées à se ramifier et certaines technologies à passer d'une branche à une autre. Le code utilisant le plus grand nombre de catégories se divise en dix couleurs :

- vert, consacré au développement de l'agriculture
- jaune, appelé biotechnologie nutritionnelle
- rouge, dédié à la médecine et à la santé humaine
- blanc, relié au milieu industriel
- gris, dédié aux problèmes de protection de l'environnement
- bleu, en relation avec le milieu aquatique, organisme marin etc...
- marron, pour les régions désertiques et sèches
- doré, lié à la bio-informatique, à l'informatique et à la technologie des puces
- violet, traitant des questions de droit, d'éthique et de philosophie
- noir lié au bioterrorisme et aux armes biologiques.

Cette classification est également incomplète, car elle ne prend pas en considération certaines technologies notamment la nanotechnologie, qui est actuellement en plein développement. Heureusement, il reste encore quelques couleurs à attribuer. Parmi les grandes catégories faisant consensus on peut en définir plusieurs(5,6).

La biotechnologie blanche s'étend aussi largement que le secteur de l'industrie est vaste. Elle se concentre sur l'utilisation de biocatalyseurs pour la production et le traitement à grande échelle de produits industriels et ainsi mettre l'accent sur la réduction de l'impact environnemental.

La biotechnologie rouge se situe dans le domaine médical, englobant les essais cliniques, le développement de vaccins, la recherche sur les maladies, la production d'antibiotiques, le développement de médicaments et les diagnostics moléculaires.

La biotechnologie verte joue un rôle crucial dans l'agriculture afin d'augmenter la production alimentaire pour une population toujours croissante. On peut citer le développement des engrais et des biopesticides plus respectueux de l'environnement, et l'utilisation de techniques telles que la modification génétique des plantes pour améliorer les rendements.

La biotechnologie bleue exploite la biodiversité marine pour développer des produits bénéfiques à la fois pour la société et l'environnement, en utilisant des organismes marins pour produire des enzymes et des protéines pour diverses applications. A l'heure où plus de 80% des océans n'a pas encore été exploré, et comptant pourtant nombreux organismes découverts possédant des propriétés particulières, on saisit l'importance de cette branche de la biotechnologie.

Il existe également un certain débat sur le fait que certaines couleurs représentent réellement leurs secteurs respectifs, cependant, les couleurs elles-mêmes sont principalement arbitraires et ne servent que de label simple et facilement reconnaissable. Si cela pouvait être plus largement accepté et uniformisé entre différentes organisations, le système de codage couleur pourrait devenir un outil de plus en plus précieux.

### **I.1.3. Historique(7–9)**

L'histoire des biotechnologies est un fascinant voyage à travers le temps, marqué par des découvertes révolutionnaires et des avancées technologiques qui ont profondément transformé notre compréhension du vivant et notre capacité à l'utiliser. Cette histoire peut se découper en trois périodes.

#### **I.1.3.1. Biotechnologie ancienne**

Bien que le concept ait été introduit en 1917 par Ereky, l'utilisation de la matière vivante pour la production de biens et de services, définie ici comme biotechnologie, ne remonte pas à cette période. Comme évoqué précédemment, l'alcool, le pain ou le fromage représentent les prémices de la biotechnologie et cela remonte au début de l'humanité. Ce n'est que très récemment qu'a été introduite la dimension de « contrôle ». Ces premières découvertes fortuites marquent l'émergence des biotechnologies « traditionnelles » ou proto-biotechnologies, une phase caractérisée par une utilisation empirique des micro-organismes, qui a perduré jusqu'au XIXe siècle.

#### **I.1.3.2. Biotechnologie classique**

Une période intermédiaire a suivi la précédente étape. Il s'agit de la phase développement, appelée "biotechnologie classique". Cette phase s'est déroulée de 1800 à presque la moitié du XXe siècle. Pendant cette période, diverses observations scientifiques ont été faites, dévoilant les mystères de la biotechnologie. Les contributions variées de plusieurs individus ont joué un rôle essentiel dans la résolution de ces énigmes, ouvrant la voie à des découvertes révolutionnaires.

Au cœur de la biotechnologie se trouvent les principes du transfert de l'information génétique, d'abord élucidés chez les plantes, notamment le *Pisum sativum*, alias "petit pois" étudié par Gregor John Mendel (1822-1884), un moine autrichien, qui a été le pionnier dans la compréhension de ces processus. Cependant, sa découverte n'a été reconnue que près de 34 ans après sa mort, lorsque d'autres scientifiques ont validé ses travaux en 1900. Cette reconnaissance arrive lorsque, dans le même temps, Charles Darwin mettait au point la théorie de l'évolution.

Parallèlement, d'autres percées importantes ont eu lieu, comme la découverte du noyau cellulaire par Robert Brown et la révélation de la nucléine par Friedrich Miescher qui sera identifiée plus tard comme l'acide désoxyribonucléique (ADN), jetant les bases de la biologie moléculaire moderne. Des avancées telles que les travaux de Robert Koch sur les colonies bactériennes et la mise au point de milieux de culture microbiens par Walter Hesse ont également marqué cette époque. On notera le développement des premiers vaccins notamment par Louis Pasteur. La microbiologie se développe alors en une discipline nouvelle, avec une composante que l'on peut commencer à qualifier d'« industrielle ». La biologie a connu une croissance remarquable avec les travaux de T.H. Morgan, qui a redéfini le principe de la génétique en démontrant le rôle des chromosomes dans l'hérédité à l'aide de mouches des fruits (*Drosophila melanogaster*). Les concepts de "gène", déjà inventés par Wilhelm Johannsen en 1909, et les termes "génotype" et "phénotype" ont également émergé à cette époque. Par ailleurs, au Royaume-Uni, Alexander Fleming a découvert le principe des antibiotiques en observant le pouvoir destructeur d'un micro-organisme sur un autre, avec la découverte majeure de la pénicilline en 1928.

### **I.1.3.3. Biotechnologie moderne**

La Seconde Guerre mondiale a entravé considérablement les avancées scientifiques. Cependant, après cette période des découvertes cruciales ont émergé, marquant le début de la biotechnologie moderne. En 1953, James Watson et Francis Crick ont réalisé une percée en élucidant la structure de l'ADN avec leur modèle en double hélice. Cette avancée a permis de comprendre la réplication de l'ADN et son rôle fondamental dans l'hérédité. Les années suivantes ont également apporté des contributions significatives, avec la révolution dans le diagnostic grâce au développement des premiers anticorps monoclonaux par Kohler et Milstein en 1975, exploitant le concept d'hybridation cytoplasmique. Une production plus systématisée des biotechnologies émerge. Cela est soutenu par des avancées significatives dans les connaissances scientifiques telles que la biochimie des protéines, l'enzymologie, les voies métaboliques, la biologie moléculaire et le génie génétique, ainsi que par des progrès technologiques tels que l'aération des fermenteurs, la régulation et la modélisation. C'est ainsi que naissent les biotechnologies modernes.

À cette époque, il semblait que la communauté scientifique avait en main tous les concepts de base, accélérant les découvertes scientifiques importantes. Le Dr Hargobind Khorana a synthétisé l'ADN dans un tube à essai. Karl Mullis a amplifié l'ADN mille fois, permettant l'insertion d'ADN étranger dans un hôte et le contrôle du transfert dans la génération suivante. L'émergence du Virus de l'Immunodéficience Humaine (VIH)/Syndrome d'immunodéficience acquise (SIDA) a stimulé le perfectionnement d'outils utilisés en sciences de la vie. En 1996, Ian Wilmut a réussi à cloner le premier mammifère, un mouton adulte, appelé "Dolly". Ces récentes découvertes ont soulevé de nombreuses interrogations éthiques sur le clonage. Sujet peu d'actualité dernièrement en France mais pas dans certains pays. En Chine notamment, il est possible de faire cloner ses animaux de compagnie.

Les bienfaits des biotechnologies sont nombreux mais leurs méfaits également. Adapter la nature pour satisfaire nos besoins est certes intéressant mais jusqu'où faut-il aller ? Ce qui était de la science-fiction hier est devenu de la science aujourd'hui. En 1997 sortait le film « Gattaca » ayant pour thème la sélection embryonnaire et le fichage génétique. Dans les années 2000, une première ébauche du génome humain était séquencée. Les assurances voudront-elles assurer une personne ayant des prédispositions génétiques non "conformes" ? En 2011, Verma AS et al. (8) se questionnaient déjà :

*« Should that be considered as a new possibility for creating life in a test tube, which could be planned and designed by human being using a pen, pencil, computer, and bioinformatics as tools? In future, can we produce life as per our imagination and whims? »<sup>1</sup>*

Ces découvertes, qu'elles soient bonnes ou mauvaises, ont alors permis d'ouvrir le champ des possibles avec des perspectives infinies.

---

<sup>1</sup> Faut-il y voir une nouvelle possibilité de créer la vie dans une éprouvette, qui pourrait être planifiée et conçue par un être humain à l'aide d'un stylo, d'un crayon, d'un ordinateur et de la bio-informatique ? À l'avenir, pourrions-nous produire la vie selon notre imagination et nos caprices ? [Traduction personnelle]

## I.1.4. Quelques notions

Nous allons maintenant définir certaines notions pour permettre une bonne compréhension de ce travail.

### I.1.4.1. Les acides nucléiques

Les acides nucléiques sont des molécules fondamentales à la vie, responsables du stockage, de la transmission et de l'expression de l'information génétique. Deux types d'acides nucléiques dominent le monde biologique : l'ADN et l'acide ribonucléique (ARN).

La structure des acides nucléiques est représentée dans la figure ci-dessous. Au niveau structurel on peut relever la forme double brin de l'ADN qui lui confère une meilleure propriété de stockage de l'information génétique contrairement à l'ARN qui n'a pas ce rôle. En effet deux brins renforcent la stabilité de l'ADN et en cas de dommage, permet une réparation grâce au deuxième brin complémentaire.

Les deux sont des polymères, c'est à dire qu'ils sont composés d'un enchainement de monomère, des petites molécules simples qui se lient entre elles pour en former une plus grosse. Dans le cas présent ces monomères sont les nucléotides.

Pour ce qui est de l'ADN, il est composé d'une base azotée (adénine (A), thymine (T), cytosine (C) ou guanine (G)), d'un sucre désoxyribose et d'un groupement phosphate. Les deux brins d'ADN sont antiparallèles, et les bases azotées forment des paires spécifiques (A-T, C-G), assurant la stabilité de la molécule.

Pour l'ARN, ses nucléotides diffèrent de l'ADN par la présence du sucre ribose et la base uracile (U) remplaçant la thymine. L'ARN peut exister sous différentes formes comprenant l'ARN messager (ARNm), l'ARN ribosomique (ARNr) et l'ARN de transfert (ARNt) et bien d'autres encore, chacun ayant des rôles spécifiques dans la synthèse des protéines.

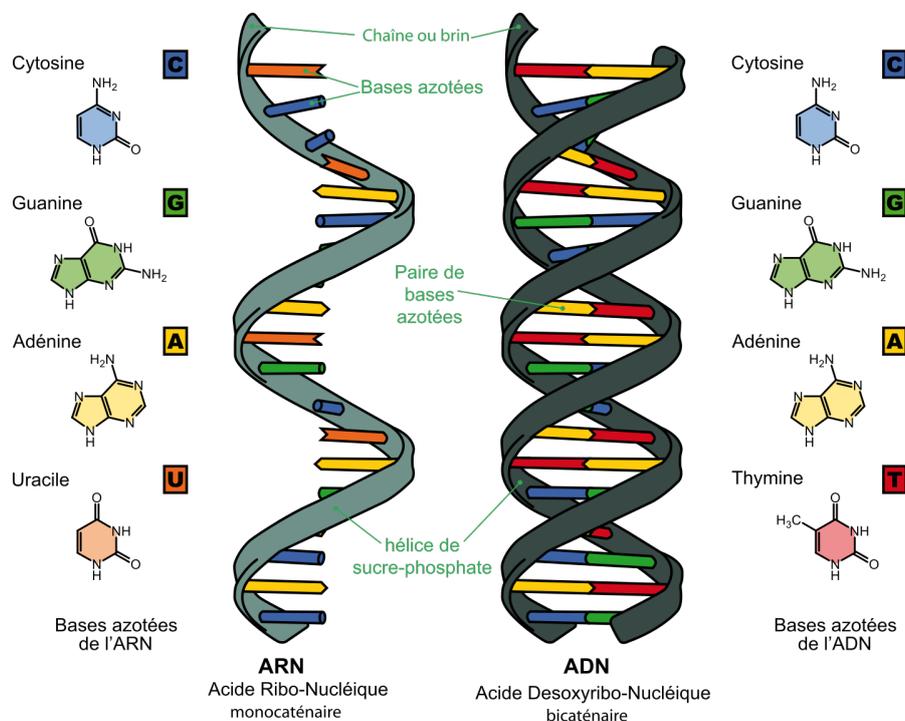


Figure 1 Comparaison entre un simple brin d'ARN (à gauche) et une double hélice d'ADN (à droite), avec les correspondances en nucléotides (et bases azotées)(10)

L'ADN conserve l'information génétique à long terme. On y retrouve certain segment spécifique, environ 20 000 que l'on nomme gènes(11). Ces gènes portent les instructions à effectuer par la cellule comme la synthèse des protéines et d'autres molécules biologiques. Sur leur ordre, les cellules synthétisent des protéines et une anomalie génétique (mutation ou anomalie chromosomique) peut perturber la fabrication de ces protéines. On peut dire qu'une anomalie donne un ordre erroné pouvant occasionner une absence de fabrication, un excès de fabrication ou une fabrication anormale de protéines. Les protéines ne peuvent plus jouer leurs rôles et cela peut engendrer une maladie génétique.

Avant la division cellulaire, l'ADN doit être répliqué avec une précision extrême. La réplication assure que chaque nouvelle cellule a une copie complète et fidèle du génome. C'est à dire l'ensemble de l'information génétique d'un être humain, dans notre cas, sous la forme de 23 paires de chromosomes.

Les acides nucléiques participent à la régulation génique, contrôlant l'expression des gènes en réponse aux besoins cellulaires et environnementaux.

#### **I.1.4.1.1. Techniques d'étude des acides nucléiques**

Les acides nucléiques, véritables architectes moléculaires de la vie, gouvernent les processus biologiques essentiels. Comprendre leur structure, leurs fonctions et les techniques qui permettent leur étude est crucial pour explorer les mystères de la génétique et de la biologie moléculaire. Plusieurs techniques sophistiquées sont utilisées pour analyser ces molécules complexes.

##### **I.1.4.1.1.1. L'électrophorèse**

L'électrophorèse est une technique fondamentale qui permet la séparation des fragments d'ADN ou d'ARN selon leur taille. Cette méthode repose sur la migration des acides nucléiques chargés négativement à travers un gel d'agarose ou de polyacrylamide sous l'influence d'un champ électrique. Les fragments plus petits migrent plus rapidement, créant ainsi une séparation basée sur le poids moléculaire. On retrouve plusieurs types d'électrophorèse. Celle sur gel d'agarose est idéale pour séparer de grands fragments d'ADN tandis que celle sur gel de polyacrylamide offre une meilleure résolution pour les petits fragments. On peut également citer l'électrophorèse capillaire qui permet une séparation plus rapide et une automatisation du procédé. Enfin, pour affiner les résultats de l'électrophorèse d'ADN sur gel d'agarose d'autre technique ont été développées comme le Southern blot. Cette technique permet de localiser une séquence d'ADN parmi les fragments ayant migrés, grâce à une sonde complémentaire, un morceau d'ADN marqué par luminescence ou radioactivité qui se liera par complémentarité au fragment que l'on recherche.

### I.1.4.1.1.2. La PCR et RT-PCR

La Polymerase Chain Reaction ((PCR), réaction en chaîne par polymérase en français) est une technique révolutionnaire permettant l'amplification ou la réplication sélective de segments spécifiques d'ADN(12). Elle utilise des cycles thermiques répétés et une enzyme (ADN polymérase thermostable) pour générer des millions de copies d'une séquence cible.

Ces cycles répétés sont composés de 3 étapes. Premièrement, l'ADN est chauffé (environ 94°C) pour séparer ses deux brins. C'est la dénaturation. La température est ensuite abaissée pour permettre aux amorces de se fixer aux extrémités de la séquence cible. Les amorces sont de courtes séquences d'ADN synthétiques généralement composées de 17 à 25 nucléotides qui sont complémentaires aux extrémités de la région d'ADN que l'on souhaite amplifier, c'est l'hybridation. Enfin l'étape d'élongation, à une température optimale (environ 72°C), l'ADN polymérase ajoute des nucléotides pour synthétiser les nouveaux brins d'ADN.

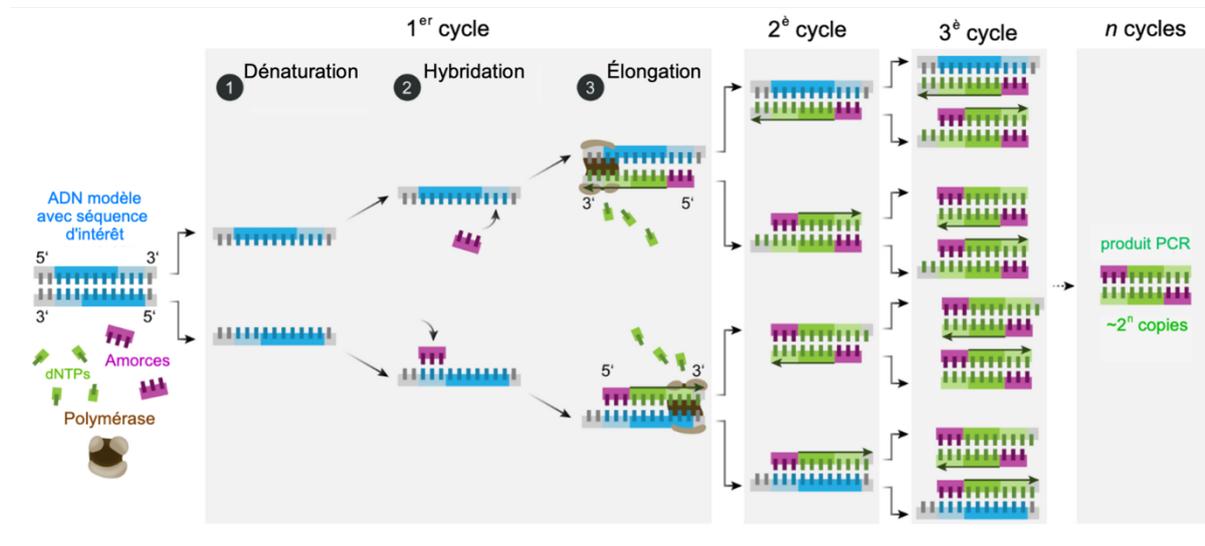


Figure 2 Principe de la réaction en chaîne par polymérase (PCR)(13)

La Reverse Transcriptase-PCR (RT- PCR) Transcriptase Inverse en français) est une variante de la PCR classique, spécialement conçue pour amplifier l'ARN. Cette technique se déroule en deux étapes principales. La transcription inverse où l'ARN est d'abord converti en ADN complémentaire (ADNc) à l'aide d'une enzyme appelée transcriptase inverse. Puis l'amplification par PCR où l'ADNc obtenu est ensuite amplifié par PCR classique. Cette technique est particulièrement utilisée pour détecter et quantifier les ARNm dans les tissus ou les cellules, diagnostiquer des infections virales, comme le SARS-CoV-2(14) ou étudier l'expression génique.

La RT-PCR quantitative (qRT-PCR)(12) est une version avancée de la RT-PCR qui permet de quantifier l'ADN ou l'ARN en temps réel pendant l'amplification. Cette technique utilise des marqueurs fluorescents pour suivre la progression de l'amplification cycle par cycle. Elle offre plusieurs avantages dont notamment une haute sensibilité, une haute spécificité, une quantification précise des acides nucléiques et des résultats rapides (environ 3 heures pour le diagnostic du SARS-CoV-2)(15).

### **I.1.4.1.1.3. Le séquençage**

Le séquençage(16) détermine l'ordre précis des nucléotides dans une molécule d'ADN ou d'ARN. La première méthode est le Séquençage de Sanger, développé en 1977 par Frederick Sanger, reste une méthode de référence pour l'analyse de séquences courtes d'ADN. Elle est basée sur un type de PCR à terminaison de chaîne. Cette PCR fonctionne comme une PCR standard à une différence près, l'ajout de nucléotides modifiés appelés didésoxyribonucléotides (ddNTP). À l'étape d'élongation de la PCR standard, l'ADN polymérase ajoute des nucléotides sur un brin d'ADN en croissance en catalysant la formation d'une liaison entre le dernier nucléotide et le nucléotide suivant.

Dans la PCR à terminaison de chaîne, l'utilisateur mélange une faible proportion de ddNTP de terminaison de chaîne avec des nucléotides non modifiés. Les ddNTP ne possèdent pas le groupement nécessaire à la formation de la liaison. Ainsi, lorsque l'ADN polymérase incorpore aléatoirement un ddNTP, l'élongation s'arrête. Cette technique permet de produire des millions voire des milliards de copies d'oligonucléotides de la séquence d'ADN d'intérêt terminées, après une longueur aléatoire (n), par des ddNTP. Cela est réalisé avec les 4 types de nucléotides : A, T, C et G. Enfin, les différentes copies sont séparées par électrophorèse et l'on peut déterminer la séquence des nucléotides dans la molécule d'ADN d'intérêt.

Par la suite est apparu le Séquençage de Nouvelle Génération (NGS)(17). Il regroupe plusieurs techniques nouvelles de séquençage permettant le séquençage massif de millions de fragments d'ADN simultanément.

Ces techniques avancées d'analyse des acides nucléiques ont révolutionné notre compréhension de la génétique et de la biologie moléculaire, ouvrant la voie à de nombreuses applications en recherche fondamentale, médecine et biotechnologie.

### **I.1.4.2. Les protéines**

Les protéines sont des macromolécules essentielles à la vie, jouant un rôle central dans la structure, la fonction et la régulation des cellules.

#### **I.1.4.2.1. La structure des protéines**

Les protéines sont des macromolécules constituées d'unité de base, les acides aminés (AA).

Ce sont des molécules essentielles présentent chez tous les êtres vivants, des bactéries aux êtres humains. Ils jouent un rôle crucial dans la majeure partie des processus biologiques. Les AA sont des composés organiques constitués d'une structure de base représenté par un groupement amine ( $\text{NH}_2$ ), un groupement carboxyle ( $\text{COOH}$ ) et un atome d'hydrogène (H). Ils possèdent également une chaîne latérale variable, également appelée groupe R. C'est cette chaîne latérale qui diffère pour chaque AA et leur confère des propriétés spécifiques.

Il existe une vingtaine d'AA couramment impliqués dans la synthèse des protéines, ce sont les AA protéinogène. On notera toutefois une exception au niveau structurelle chez ces AA protéinogènes : la proline. Cet AA possède une chaîne latérale formant une structure cyclique avec son atome d'azote lié à deux atomes de carbone. La figure 3 représente cette structure et ses groupements caractéristiques.

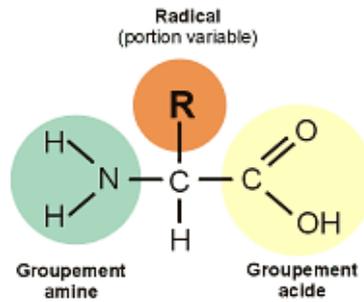


Figure 3 Structure d'une protéine en formule développée plane

- Structure Primaire :

Lorsque ces AA peuvent se lient entre eux grâce à des liaisons peptidiques, ils forment alors une chaîne appelée polypeptide ce qui donne une séquence d'AA constituant la structure primaire d'une protéine. Cette séquence détermine les caractéristiques de la protéine mais aussi sa conformation et donc sa fonction. La structure primaire d'une protéine influence de manière cruciale sur sa fonction finale en déterminant la position des AA qui formeront ensuite les sites actifs ou de liaison de la protéine. Ces sites sont cruciaux pour l'activité catalytique des enzymes ou la liaison de ligands spécifiques. La nature des AA (hydrophobes, hydrophiles, chargés, etc.) influence les propriétés globales de la protéine, comme sa solubilité ou sa stabilité.

La figure 4 représente le principe de la liaison peptidique.

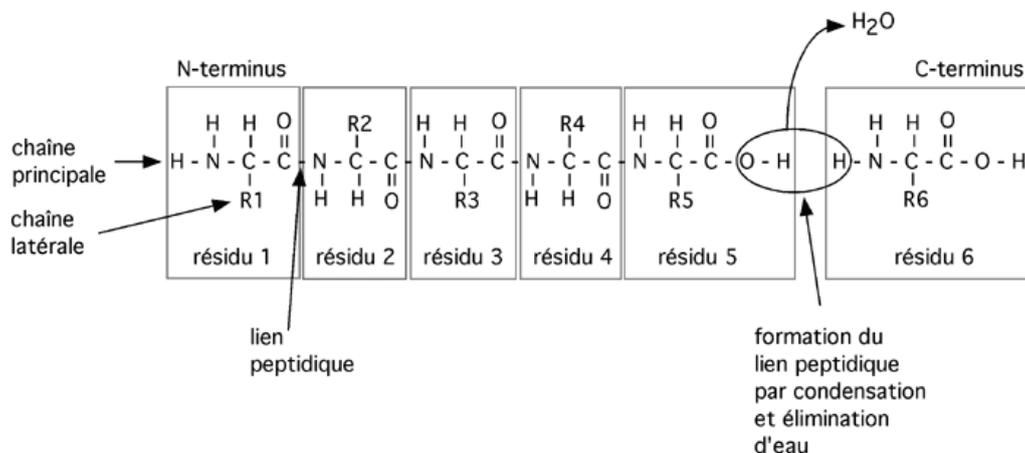


Figure 4 Configuration d'une protéine liée par liaison peptidique et principe de la formation de cette liaison(18)

La séquence d'AA dicte le repliement de la protéine en structures secondaires, tertiaires et quaternaires essentiel pour la fonction de la protéine.

- Structure Secondaire :

Les interactions non-covalentes locales, entre les atomes de la protéine d'une section de chaîne polypeptidique, donnent lieu à des repliements organisés, définissant les structures secondaires, telles que les hélices alpha et les feuillets bêta.

- Structure Tertiaire :

Les interactions non-covalentes entre les chaînes latérales des AA replient la protéine dans une structure tridimensionnelle appelée structure tertiaire. Ces interactions peuvent être électrostatiques, de van der Waals, ou hydrogène auxquelles se rajoutent des effets hydrophobes.

- Structure Quaternaire :

Dans le cas de protéines constituées de plusieurs chaînes polypeptidiques (sous-unités), la structure quaternaire décrit l'agencement spatial des sous-unités les unes par rapport aux autres et est stabilisée par les mêmes types d'interactions que la structure tertiaire.

La figure 5 montre la protéine d'hémoglobine qui possède une structure quaternaire puisqu'elle est composée de 4 sous-unités de globine qui lui permettent de former une cavité lui conférant la capacité de capter de l'oxygène.

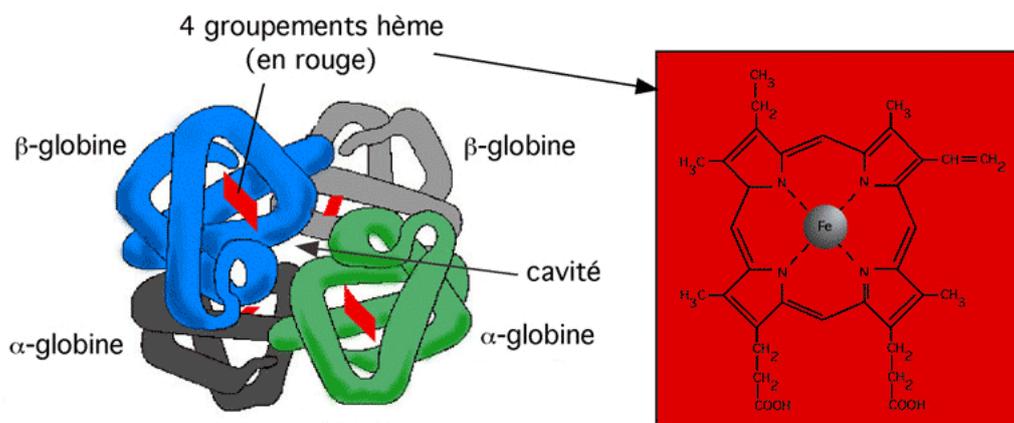


Figure 5 Structure quaternaire d'une protéine, exemple de l'hémoglobine(19)

Enfin la figure 6 résume et représente les types de structure d'une protéine.

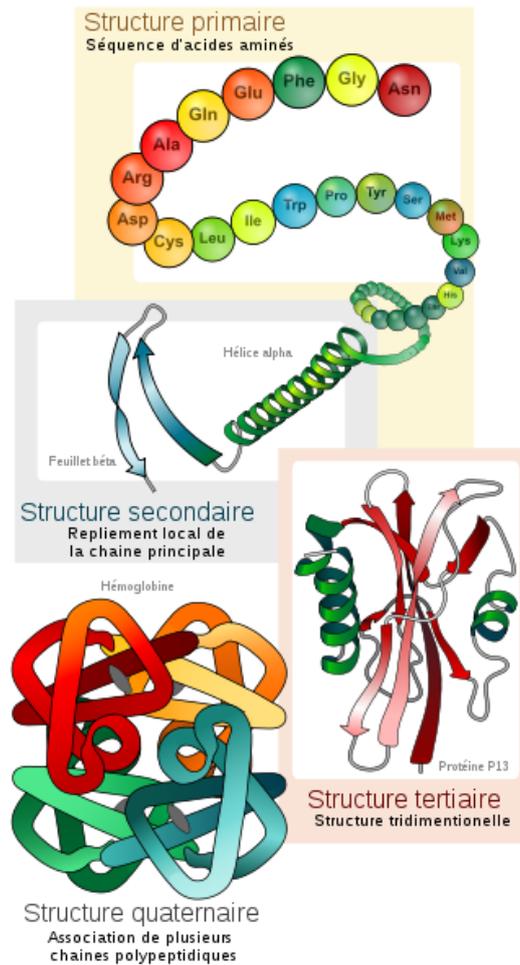


Figure 6 Représentation schématique des 4 niveaux de structure d'une protéine(20)

#### I.1.4.2.2. La synthèse des protéines

La synthèse des protéines est un processus complexe qui débute dans le noyau cellulaire. Tout commence avec l'ADN, qui contient l'information génétique nécessaire à la production des protéines. Lorsqu'une protéine spécifique doit être synthétisée, le gène correspondant sur l'ADN est d'abord activé. Cette activation implique des facteurs de transcription qui se lient à des régions spécifiques de l'ADN, appelées promoteurs, pour initier le processus. Une fois le gène activé, la double hélice d'ADN est partiellement déroulée dans la région du gène, exposant ainsi la séquence qui sera transcrite.

La transcription, réalisée par une enzyme, l'ARN polymérase, permet la synthèse de l'ARNm à partir de l'ADN. La traduction est la conversion de l'ARNm en séquence d'AA, formant ainsi les protéines. Il est important de noter que la traduction en protéine est basée sur un système de codon. Un codon s'apparente à un mot de code dans le langage de l'ADN. Il faut imaginer que l'ADN est un long livre d'instructions pour fabriquer des protéines. Dans ce livre, chaque "mot" (codon) est composé de trois lettres. Ces lettres sont en fait les bases de l'ADN : A, T, C, et G (ou A, U, C, G dans l'ARN). Par exemple, un codon pourrait être "AUG" ou "CAG".

Chaque codon a une signification précise. La plupart permettent à la cellule de savoir quel AA ajouter lors de la fabrication d'une protéine. Certains codons spéciaux signifient "Commencez ici" (codon start) ou "Arrêtez-vous ici" (codon stop). Il y a 64 codons différents possibles, mais seulement vingt AA ce qui signifie que plusieurs codons peuvent coder pour le même AA.

En résumé, les codons sont le "vocabulaire" que les cellules utilisent pour lire les instructions génétiques et fabriquer des protéines.

Pour traduire ce code l'organisme a besoin d'un traducteur, le ribosome. C'est un complexe macromoléculaire essentiel présent dans toutes les cellules vivantes. Il est composé d'ARN ribosomique (ARNr) et de protéines, formant une structure complexe d'environ 25-30 nanomètres de diamètre. Chaque ribosome est constitué de deux sous-unités : une grande et une petite, qui s'assemblent lors de l'initiation de la synthèse protéique.

La fonction principale du ribosome est de catalyser la synthèse des protéines, c'est le processus de traduction. Lors de ce processus, le ribosome décode l'information génétique contenue dans l'ARNm et assemble les AA en chaînes polypeptidiques selon les instructions fournies par le code génétique.

Le mécanisme de traduction se déroule en trois étapes qui sont l'initiation, l'élongation et la terminaison. Pendant l'initiation, la petite sous-unité du ribosome se lie à l'ARNm au niveau du codon de départ tandis que la grande sous unité catalyse la formation de liaison peptidique. L'élongation implique l'ajout séquentiel d'AA à la chaîne polypeptidique en croissance, tandis que le ribosome se déplace le long de l'ARNm. La terminaison se produit lorsque le ribosome rencontre un codon stop sur l'ARNm.

La figure 7 représente les différentes étapes de synthèse d'une protéine

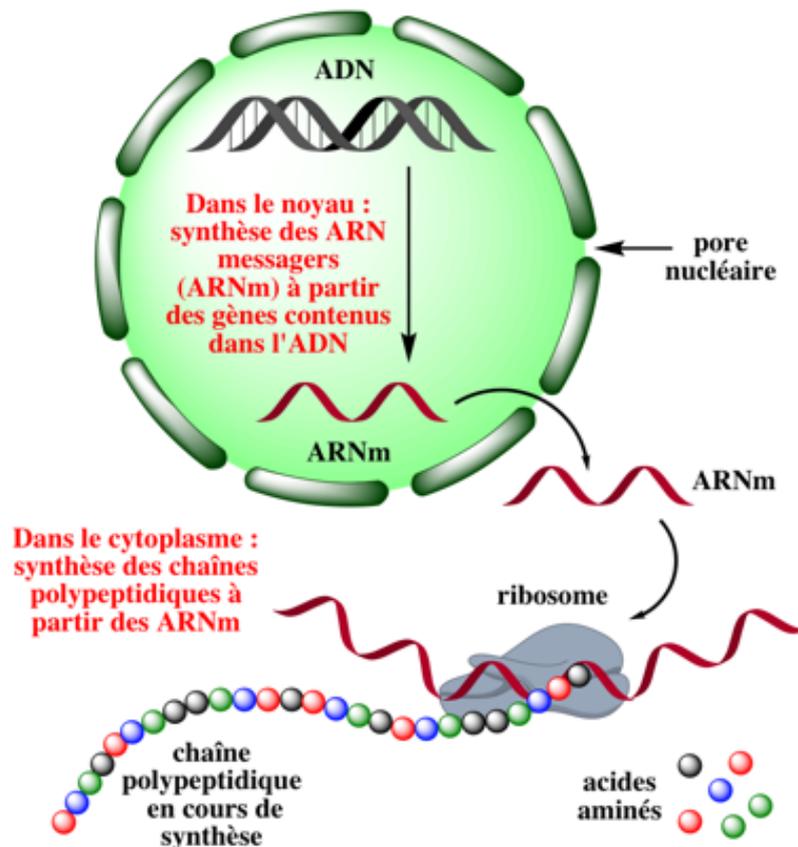


Figure 7 Étapes de la synthèse d'une protéine(21)

La synthèse d'une protéine fonctionnelle est un processus complexe qui ne s'arrête pas à la simple traduction de l'ARNm. En effet, après sa synthèse initiale, une protéine doit généralement subir plusieurs étapes de maturation avant d'être pleinement fonctionnelle. Ce processus de maturation est crucial pour que la protéine acquière sa structure finale et ses propriétés biologiques.

Bien que la structure d'une protéine soit largement déterminée par sa séquence d'AA, son état final et sa fonction peuvent être considérablement influencés par des modifications qui surviennent après sa synthèse initiale. Ces changements, appelés modifications post-traductionnelles, ajoutent un niveau supplémentaire de complexité et de régulation à la fonction protéique. Elles jouent un rôle crucial dans la régulation de l'activité, de la localisation et de la stabilité des protéines. Les principales modifications post-traductionnelles sont représentées dans la figure 8.

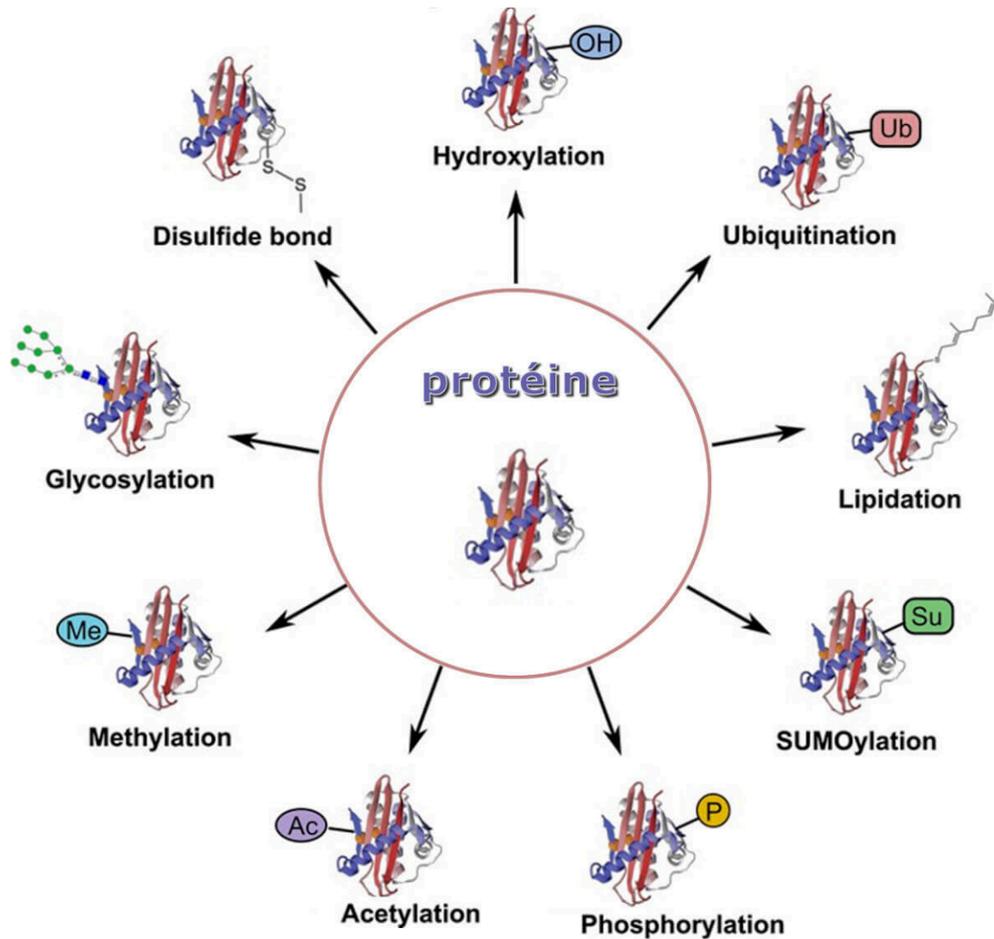


Figure 8 Principales modifications post-traductionnelles d'une protéine(22)

Parmi les principales modifications post-traductionnelles, on retrouve :

- La phosphorylation qui correspond à l'ajout d'un groupe phosphate généralement sur les AA sérine, thréonine, ou tyrosine. Cette modification joue un rôle clé dans la régulation des voies de signalisation cellulaire et l'activation ou l'inactivation des protéines.
- La glycosylation, soit l'addition de chaînes de sucres sur des résidus asparagine, sérine ou thréonine(23) est importante pour le repliement correct des protéines et leur stabilité, ainsi que pour la reconnaissance cellulaire.
- L'acétylation ou l'ajout d'un groupe acétyl, souvent sur les lysines, qui influence la fonction des protéines en modifiant leur interaction avec l'ADN et d'autres protéines.
- L'ubiquitination, la liaison covalente d'ubiquitine sur une lysine cible, marque souvent les protéines pour leur dégradation par le protéasome.
- Le clivage protéolytique, qui explique le fait que certaines protéines sont synthétisées sous forme de précurseurs inactifs qui doivent être clivés pour devenir actifs. C'est par exemple le cas pour l'activation de l'insuline à partir de son précurseur la proinsuline.
- Les ponts disulfures, entre deux atomes de soufre de cystéines, permettent de stabiliser la structure tridimensionnelle des protéines.

Les modifications post-traductionnelles peuvent activer ou inhiber les fonctions enzymatiques et autres activités protéiques. Certaines modifications déterminent où une protéine réside dans la cellule et influencent la capacité des protéines à interagir avec d'autres molécules. Ces modifications peuvent permettre de « marquer » les protéines pour permettre une dégradation rapide ou pour prolonger leur demi-vie, le temps nécessaire pour que la concentration en protéine diminue de moitié.

En résumé, les modifications post-traductionnelles sont essentielles pour ajuster les fonctions protéiques aux besoins cellulaires changeants, permettant ainsi une grande flexibilité et adaptabilité dans les processus biologiques.

#### **I.1.4.2.3. Les fonctions biologiques des protéines**

Les protéines jouent de nombreux rôles dans l'organisme et sont essentielles à son fonctionnement. Les principales fonctions sont détaillées ci-dessous avec quelques exemples.(24)

- **Fonction structurale**

Les protéines fournissent une structure et un soutien aux cellules et aux tissus. Elles sont essentielles pour maintenir l'intégrité physique des organismes.

On peut notamment nommer le collagène qui est la protéine la plus abondante chez les mammifères, présente dans les tissus conjonctifs comme la peau, les os, et les tendons. Il confère résistance et élasticité. Également la Kératine, protéine présente dans les cheveux, les ongles et la peau, offre protection et structure.

- **Fonction enzymatique**

Les enzymes sont des protéines qui accélèrent les réactions chimiques dans le corps, rendant possible le métabolisme cellulaire.

On retrouve dans cette catégorie l'ADN-polymérase, précédemment citée, qui catalyse la synthèse de l'ADN lors de la réplication cellulaire. A un niveau plus macroscopique on peut citer l'amylase, enzyme qui décompose l'amidon en sucres simples dans le système digestif.

- **Fonction de transport**

Certaines protéines transportent des molécules essentielles à travers le corps ou à travers les membranes cellulaires. On retrouve principalement l'Hémoglobine, protéine évoquée précédemment, dans le cadre de la structure quaternaire des protéines. Elle transporte l'oxygène des poumons vers les tissus et ramène le dioxyde de carbone aux poumons afin d'être expiré. On trouve également l'albumine qui transporte diverses substances dans le sang, y compris les hormones, vitamines et médicaments.

- **Fonction de signalisation**

Les protéines jouent un rôle crucial dans la communication entre cellules et dans la transmission de signaux biologiques. Dans ce rôle, on trouve les hormones protéiques telle que l'insuline, qui régule le taux de glucose sanguin. On les retrouve également de l'autre côté de la chaîne de signalisation avec les récepteurs hormonaux qui reçoivent des signaux externes et déclenchent des réponses cellulaires internes.

- Fonction motrice

Les protéines motrices sont impliquées dans le mouvement au niveau cellulaire et organique. L'Actine et la Myosine interagissent pour provoquer la contraction musculaire. On peut également citer la Dynéine et la Kinésine qui sont des protéines motrices se déplaçant le long des microtubules ("échafaudages" cellulaires dynamiques jouant un rôle crucial dans la structure et le fonctionnement des cellules) et permettant le transport de cargaisons le long des microtubules dans les cellules.

- Fonction immunitaire

Les protéines jouent un rôle clé dans la défense contre les infections et maladies. Les Anticorps reconnaissent et neutralisent spécifiquement les agents pathogènes tels que les bactéries et virus. Les Cytokines, protéines de signalisation, modulent les réponses immunitaires.

- Fonction de régulation

Certaines protéines régulent divers processus biologiques en contrôlant l'activité d'autres molécules ou en modulant l'expression génique. Les facteurs de transcription régulent l'expression des gènes en se liant à l'ADN. On trouve également des inhibiteurs d'enzymes qui régulent l'activité enzymatique en empêchant certaines réactions chimiques.

- Fonction énergétique

Ce n'est pas leur rôle principal, néanmoins, les protéines peuvent être dégradées pour fournir de l'énergie lorsque d'autres sources (comme les glucides) sont insuffisantes.

En résumé, les protéines sont incroyablement diversifiées en termes de structure et de fonction. Elles sont essentielles non seulement pour maintenir la structure physique des organismes mais aussi pour faciliter la grande majorité des réactions chimiques nécessaires à la vie. Leur capacité à interagir spécifiquement avec d'autres molécules leur permet d'assumer une variété de rôles vitaux dans les systèmes biologiques.

### I.1.4.3. Les plasmides

Les plasmides sont des molécules d'ADN circulaires double-brins, généralement présentes dans les cellules bactériennes. Leur caractéristique principale est leur capacité de répllication autonome, c'est à dire indépendante du chromosome bactérien. Bien que majoritairement circulaires, certains plasmides peuvent être linéaires. La figure 9 représente les plasmides ainsi que l'ADN bactérien au sein d'une bactérie.

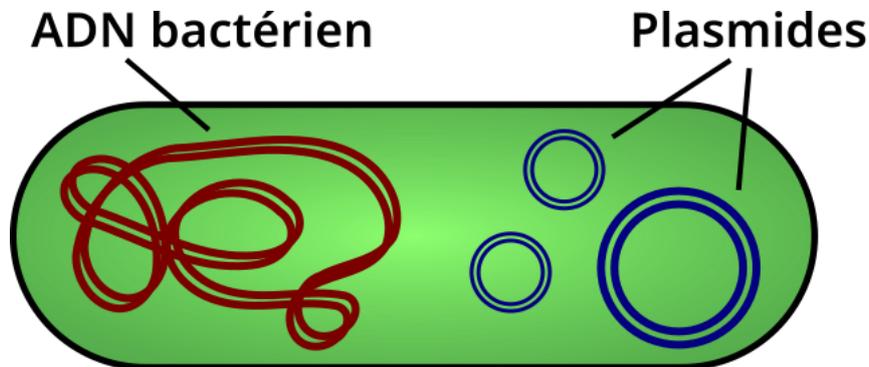


Figure 9 Plasmides au sein d'une bactérie(25)

Ces éléments génétiques extrachromosomiques jouent un rôle crucial en génétique moléculaire et en ingénierie génétique. Ils portent souvent des gènes conférant des avantages sélectifs à leur hôte, tels que la résistance aux antibiotiques ou la production de protéines spécifiques. Les plasmides facilitent également la transmission horizontale de gènes entre bactéries, contribuant ainsi à la diversité génétique des populations microbiennes.

En laboratoire, les plasmides sont utilisés comme vecteurs pour introduire des gènes spécifiques dans des cellules lors de transformations génétiques. Leur manipulation est facilitée par l'incorporation de marqueurs de sélection, comme des gènes de résistance aux antibiotiques, permettant d'identifier et de cultiver les cellules ayant intégrées le plasmide.

Ces outils moléculaires sont devenus indispensables en biotechnologie, ouvrant la voie à des avancées significatives dans divers domaines. Ils sont notamment utilisés pour la production de médicaments comme les anticorps monoclonaux, le développement de cultures génétiquement modifiées, et plus généralement, pour la manipulation génétique à des fins de recherche et d'applications industrielles.

### I.1.4.4. Le transfert de matériel génétique

Les termes "transfection", "transformation" et "transduction" sont des notions distinctes en biologie moléculaire et génétique partageant néanmoins un point commun, l'introduction d'acides nucléiques dans des cellules.

La transfection est le processus d'introduction contrôlée d'ADN ou d'ARN dans des cellules eucaryotes. Les méthodes incluent l'utilisation de réactifs chimiques, la lipofection (utilisation de liposomes), l'électroporation (utilisation d'un courant électrique pour perturber temporairement la membrane cellulaire, facilitant ainsi l'entrée du matériel génétique) ou des vecteurs viraux modifiés. La transfection est largement utilisée en recherche fondamentale, dans le développement de médicaments, en thérapie génique et en biotechnologie pour étudier ou modifier les fonctions génétiques de ces cellules. A titre d'exemple, la transfection est utilisée pour produire des lignées cellulaires exprimant des protéines fluorescentes, permettant d'étudier la localisation et de la fonction des protéines in vivo.

La transformation désigne l'incorporation d'ADN étranger, généralement sous forme de plasmides, dans des cellules procaryotes. Cette technique est essentielle en génie génétique pour créer des bactéries génétiquement modifiées, avec des applications en production de protéines recombinantes et recherche génétique. Un exemple concret est la transformation d'*Escherichia coli* pour produire de l'insuline humaine recombinante, révolutionnant le traitement des patients atteints de diabète.

La transduction permet le transfert d'acides nucléiques entre cellules via des vecteurs viraux. Les virus, naturels ou modifiés, servent de véhicules pour transporter l'information génétique. La transduction est utilisée en recherche génétique, thérapie génique et virologie pour étudier ou modifier le matériel génétique des cellules, ainsi que pour développer des traitements géniques. Les vecteurs dérivés de virus adéno-associés (AAV) peuvent être pris comme exemple, ils sont utilisés pour traiter certaines formes de cécité héréditaire en introduisant des gènes fonctionnels dans les cellules rétinienne.

## II. Des technologies majeures parmi les médicaments issus des biotechnologies

Nous allons maintenant étudier des technologies majeures de médicaments qui découle de ce que nous venons de voir. Les types de médicaments issus des biotechnologies étant variés nous n'allons développer ici que quelques grandes familles de ces technologies.

### II.1. Les médicaments à base de protéines recombinantes

Les protéines recombinantes sont des protéines produites à partir de la technologie de l'ADN recombinant. Cette technologie consiste à introduire un gène spécifique codant pour une protéine d'intérêt dans un organisme hôte, tel que, par exemple : une bactérie, une levure ou une cellule de mammifère ; afin de permettre à cet organisme de produire la protéine cible en grande quantité.

La figure 13 décrit les différentes étapes de la technique de l'ADN recombinant.

En effet, la séquence de gène qui code pour la protéine d'intérêt est insérée dans un vecteur d'expression tel qu'un plasmide. Celui-ci est transféré dans une cellule hôte, issue d'une lignée cellulaire définie, afin de synthétiser ladite protéine. Cette cellule hôte servira de base pour la production de banques cellulaires. Les cellules seront ensuite mises en culture durant la phase dite d'« Upstream », et s'en suivra la phase de purification dite de « Downstream », on diminue le volume jusqu'à la formulation et au conditionnement.

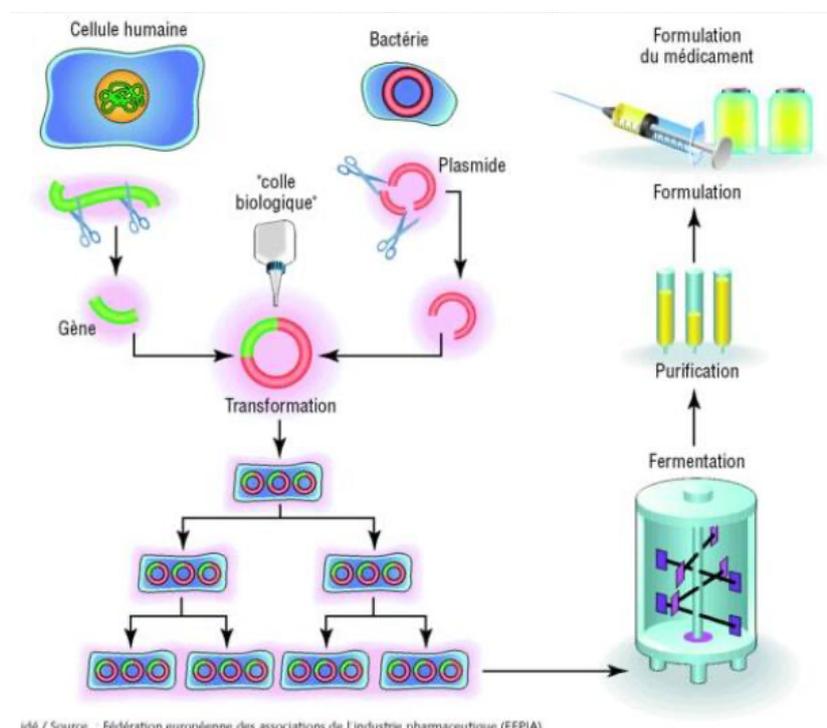


Figure 10 La production de protéines thérapeutiques via la technique de l'ADN recombinant (26)

### **II.1.1. Le choix du système d'expression**

La première étape, cruciale pour l'ensemble du processus, consiste à choisir le système d'expression de la protéine, c'est-à-dire le type de cellule hôte qui recevra la mutation permettant la production de la protéine. Ce choix est déterminant car il orientera toutes les étapes suivantes du développement.

La sélection du système d'expression dépend de plusieurs facteurs clés notamment l'étape de développement du projet (preuve de concept, développement pour essais cliniques, production à grande échelle), le rendement souhaité, la nature et la complexité structurale de la protéine à produire et l'application finale du produit (diagnostic, médicament, recherche). On retrouve principalement des systèmes basés sur les cellules animales, bactéries, levures, ou cellules d'insectes mais d'autres systèmes existent. Pour la production de médicaments biologiques, les systèmes de cellules animales sont souvent privilégiés car ils permettent de fabriquer des protéines recombinantes ayant une structure proche de celles retrouvées naturellement chez les humains. Ces cellules sont particulièrement adaptées pour des protéines complexes comme des anticorps, nécessitant une phase de maturation importante avec des modifications co et post-traductionnelles telles que des glycosylations, des repliements, ou des sulfatations.

Cependant, chaque système présente ses avantages spécifiques. Par exemple, les bactéries offrent une croissance cellulaire plus rapide, des besoins nutritionnels plus faibles et une capacité de production plus élevée. Elles sont donc indiquées pour des protéines à structure simple comme l'insuline, offrant de bons rendements et un coût de production plus faible.

Le choix du système d'expression n'est pas toujours évident et dépend des contraintes et objectifs spécifiques du projet. Il peut être limité par des facteurs techniques, réglementaires ou économiques. Cette décision initiale est fondamentale car elle impactera directement la faisabilité, l'efficacité et le coût de l'ensemble du processus de production. Pour une production à grande échelle, il faut également que les cellules choisies soient des cellules spécifiquement adaptées à la culture intensive. De manière physiologique, une cellule ne peut se diviser indéfiniment, elle subira une mort programmée que l'on appelle apoptose. Pour une production de médicament il faut éviter cela en passant par des lignées cellulaires dites « continues », qui ont perdu cette caractéristique de mort programmée et qui ont une capacité de division illimitée. Soit ces cellules ont obtenu spontanément cette caractéristique via une mutation génétique, soit ces cellules sont prélevées dans des tissus tumoraux, qui par définition possèdent cette capacité de division illimitée, soit ce sont des cellules normales qui ont été transformées en introduisant des oncogènes viraux. Ce sont donc des cellules moins fragiles, qui peuvent être cultivées indéfiniment, qui supportent la culture en masse et qui sont « facilement » stockables.

### **II.1.2. L'insertion du gène et clonage**

Une fois le système d'expression défini, la cellule va être modifiée génétiquement afin qu'elle produise la protéine d'intérêt. Pour cela on utilise le génie génétique et plus particulièrement la technique de l'ADN recombinant.

Lorsque le gène humain codant pour la protéine d'intérêt est identifié, il est isolé afin d'être inséré dans un vecteur d'expression comme un plasmide. Pour cela le plasmide ainsi que le gène sont coupés par des enzymes qui reconnaissent des suites de nucléotides spécifiques. Ce sont les enzymes de restrictions.

Enfin le plasmide et le gène qui ont été coupés de manière identique peuvent se lier grâce à l'action de l'ADN ligase ce qui donnera un vecteur recombinant. Une fois le gène d'intérêt inséré dans le plasmide, ce dernier est introduit dans une cellule à l'aide de diverses méthodes de transfection.

Plusieurs cas de figures peuvent ensuite se présenter et il faudra sélectionner les cellules d'intérêt. On peut utiliser des gènes marqueurs préalablement greffés au gène d'intérêt et/ou au plasmide. Ces gènes marqueurs confèrent aux cellules des caractéristiques distinctes qui permettent de les distinguer.

Par exemple, dans le cas de cellules bactériennes, un plasmide peut contenir un gène de résistance à un antibiotique et un autre gène codant pour une enzyme produisant un produit de dégradation coloré en présence d'un substrat spécifique.

Les cellules ayant intégré uniquement le plasmide (sans le gène d'intérêt) exprimeront le gène marqueur de résistance à l'antibiotique, leur permettant de survivre en présence de cet antibiotique et produiront une protéine colorée.

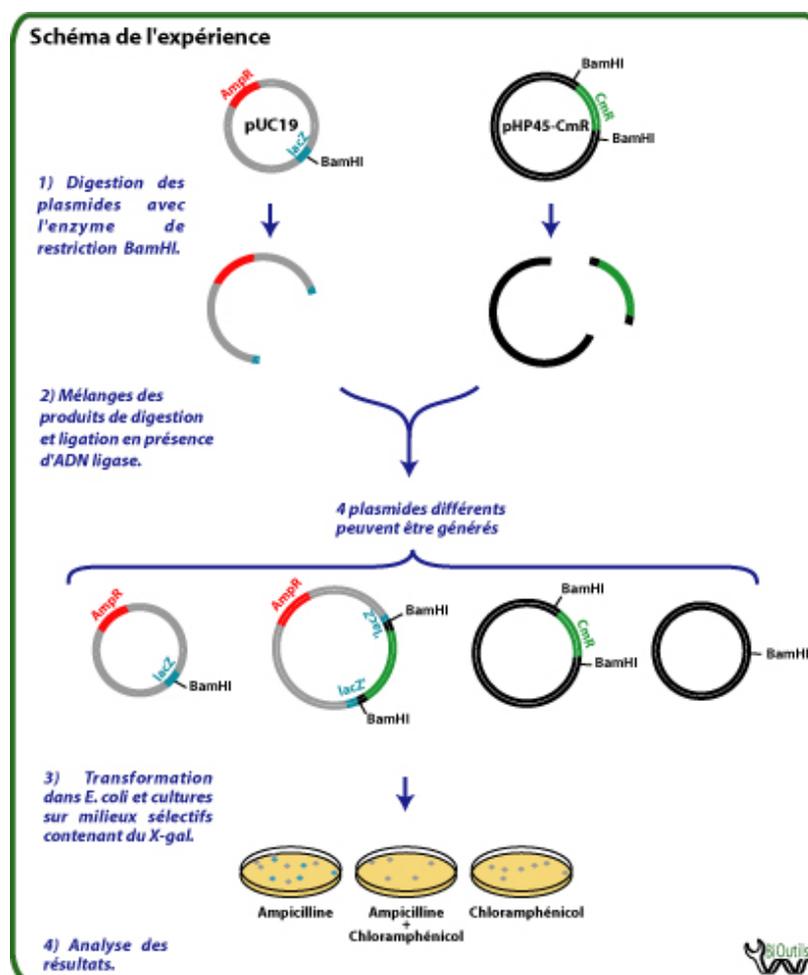


Figure 11 Schéma d'expérience de clonage d'un gène tiré de bioutils.ch(27)

En se basant sur le schéma d'expérience en figure 11, si on insère notre gène d'intérêt dans une coupure faite au milieu du gène permettant de produire le produit coloré (lacZ) alors les cellules ayant intégré le gène d'intérêt ne seront plus capables de produire de la couleur.

En cultivant ces cellules dans un milieu contenant l'antibiotique et le substrat spécifique du deuxième gène marqueur, on pourra observer visuellement les cellules qui ont intégré à la fois le plasmide et le gène d'intérêt, car elles exprimeront la résistance à l'antibiotique en se développant dans le milieu mais ne feront pas de produit coloré contrairement à celle n'ayant pas intégré le gène d'intérêt.

Cela permettra ainsi de différencier les cellules ayant intégré uniquement le plasmide de celles ayant intégré à la fois le plasmide et le gène d'intérêt. Il existe plusieurs méthodes pour différencier les plasmides recombinants.

Chaque clone de cellule sera isolé par dilution limite, c'est à dire que les cellules seront diluées de telle manière que, statistiquement, une seule cellule est présente dans une culture. Les cellules seront sélectionnées et mise en culture dans des micro-bioréacteur, des plateformes automatisées pour la sélection des clones à haut rendement. Ensuite des tests seront effectués sur les cellules ainsi que sur la protéine synthétisée et ce dans le but de vérifier si elles répondent aux critères de performance et de qualité requis au niveau de la croissance et viabilité cellulaire ainsi que du taux et de la stabilité d'expression de la protéine d'intérêt afin de viser une production industrielle.

Finalement, le meilleur clone de ces cellules sera sélectionné afin de constituer une banque cellulaire.

### **II.1.3. Les banques cellulaires**

Dans le processus de production de protéines recombinantes à usage thérapeutique, les banques cellulaires jouent un rôle fondamental en assurant la stabilité, la reproductibilité et la qualité du matériel biologique utilisé. Ce système, organisé en deux niveaux distincts mais complémentaires, constitue la pierre angulaire de la production à grande échelle de produits biopharmaceutiques

#### **II.1.3.1. La Master Cell Bank**

La première étape consiste à créer la banque cellulaire primaire ou Master Cell Bank (MCB) en anglais. Cette MCB est préparée à partir de la lignée cellulaire, présentant le gène d'intérêt, nouvellement construite. Les cellules subissent une phase d'amplification afin qu'elles se multiplient puis elles sont réparties en petites fractions dans des ampoules et cryoconservées sous azote liquide. Cette MCB n'est pas utilisée directement pour le lot de production. La MCB conserve les lignées cellulaires initiales qui ont été caractérisées et évaluées pour leur stabilité génétique, leur pureté et leur capacité à produire la protéine ou le produit biologique souhaité. En utilisant la MCB, les fabricants peuvent garantir la reproductibilité de la production à grande échelle de produits biopharmaceutiques, car ils peuvent cultiver les cellules de manière cohérente à partir de la même source. Cela permet également de réduire le risque de contamination croisée avec d'autres lignées cellulaires ou de dérive génétique qui pourrait affecter la qualité ou la sécurité du produit final. De plus l'ICH Q5D (28) reconnaît que le concept d'une banque de cellules à deux niveaux, dans laquelle la MCB est utilisée pour générer des banques de cellule secondaire, ou de travail, Working Cell Bank (WCB) en anglais, est généralement accepté comme l'approche la plus pratique pour fournir un approvisionnement en substrat cellulaire pour la fabrication continue du produit.

### II.1.3.2. La Working Cell Bank

La deuxième étape est donc la création d'une banque cellulaire de travail (WCB) qui servira, quant à elle, à la production de la molécule d'intérêt. Comme indiqué sur la figure 12, à partir d'une ampoule de semence primaire (la MCB) décongelée puis amplifiée via un nombre de culture successive. Ces cellules sont à nouveau réparties dans diverses ampoules qui seront à leur tour cryoconservées. Une ampoule de la WCB donnera alors lieu à un lot de production. Lorsque toutes les ampoules de WCB seront épuisées, une nouvelle WCB sera générée à partir de la MCB.

Il faut ici comprendre que ce processus sert à obtenir des banques de cellules identiques, puisque découlant du même clone, qui auront donc la capacité de fabriquer des protéines recombinantes de la même manière. Ainsi, elles seront le plus homogène possible. Il est donc vital pour la production de cette protéine, que le fabricant mette en place des dispositions qui vise à protéger sa MCB. Si le fabricant perd sa MCB, alors cela sonne l'arrêt total de la production et de la commercialisation du médicament.

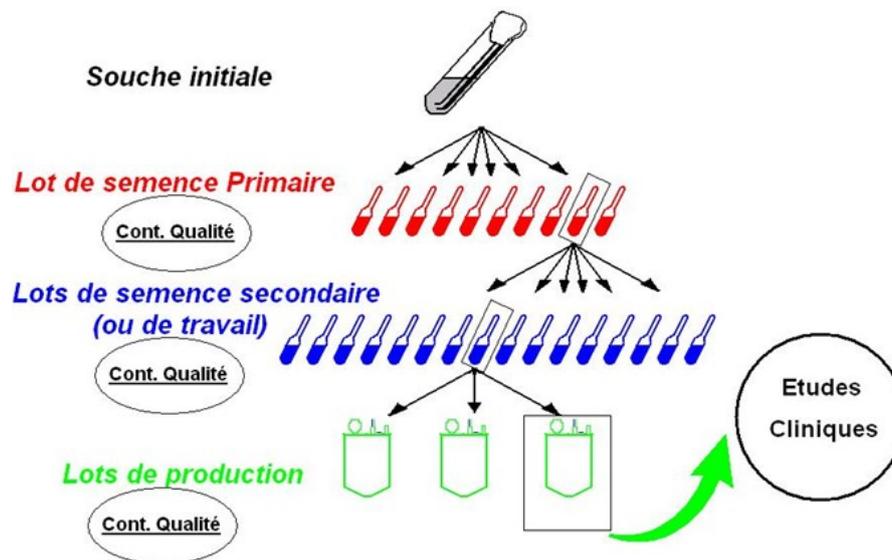


Figure 12 Illustration de la constitution d'un système de banque cellulaire propre aux médicaments biologiques(29)

On retrouve deux types de cryoconservation, sous vapeur d'azote ou en phase liquide. Chacun présente des avantages et des inconvénients qu'il conviendra d'apprécier en fonction de la protéine d'intérêt

L'étape suivante de production se divise en deux parties, l'Upstream Process suivi du Downstream Process.

#### II.1.4. L'Upstream Process

L'Upstream Process se réfère à la phase initiale de production où les cellules hôtes sont cultivées et manipulées pour produire la protéine ou le produit biologique désiré. Cette étape commence par la décongélation d'une WCB, mise en culture dans un premier bioréacteur. S'en suit une étape d'expansion cellulaire par des passages successifs dans des bioréacteurs de tailles de plus en plus importantes pouvant atteindre jusqu'à 20 000 litres en fonction du bioréacteur choisi, cuve inox, usage unique etc... Afin que les cellules puissent se multiplier, leur milieu de culture doit être composé d'éléments nutritifs tels que des AA, des sels organiques ou des lipides. Ce milieu doit également être suivi et géré au niveau physico-chimique. En effet la température, le pH, l'isotonie ou encore la concentration en CO<sub>2</sub> doivent être surveillés et être optimaux pour la cellule d'intérêt. Chacun des paramètres possède un réglage optimal en fonction de ce que l'on cherche à obtenir et en fonction de la cellule en présence.

Par exemple, les cellules CHO (Chinese Hamster Ovary), largement utilisées dans l'industrie biotechnologique pour la production de protéines recombinantes, notamment des anticorps monoclonaux, nécessitent des conditions de culture spécifiques. Ces cellules, issues d'ovaires de hamster chinois, sont particulièrement appréciées pour leur capacité à produire des protéines complexes avec des modifications post-traductionnelles compatibles avec les protéines humaines. Pour ces cellules CHO, la diminution modérée de la température, de 37°C à entre 30 et 35°C ralentit la croissance cellulaire, prolonge la viabilité des cellules, et stimule la vitesse spécifique de production de la molécule d'intérêt(30). Cette adaptabilité aux conditions de culture, combinée à leur haut rendement de production (pouvant atteindre 50 à 300 mg/L, voire plus pour les lignées optimisées(31)), fait des cellules CHO un choix privilégié pour la production à grande échelle de protéines thérapeutiques.

Il faut également penser à l'environnement mécanique et protéger les cellules par rapport aux contraintes hydrodynamiques, par exemple. Enfin il faut surveiller les produits issus du métabolisme des cellules tels que les ions ammonium ou le lactate qui peuvent avoir un effet inhibiteur sur les cellules. Les cellules, ainsi, se développent et se multiplient dans les bioréacteurs pendant une période définie, généralement quelques jours à quelques semaines, selon le système cellulaire utilisé et la production visée.

### II.1.5. Le Downstream Process

La cellule s'est multipliée, elle a produit la protéine d'intérêt et d'autres produits issus de son métabolisme. Il faut maintenant isoler la protéine d'intérêt de ce milieu complexe, c'est la phase de purification (Downstream process).

La première étape de ce procédé est la clarification. La protéine d'intérêt est séparée des principales impuretés. Deux cas de figure peuvent se présenter en fonction du type d'expression cellulaire, et différentes techniques seront alors appliquées lors de cette clarification primaire :

- Soit le système d'expression de la cellule est intracellulaire, la protéine se trouve alors à l'intérieur de la cellule. Le milieu de culture est d'abord éliminé puis les cellules sont lysées, par des méthodes enzymatiques, chimiques ou physiques pour libérer la protéine. La protéine se retrouve alors dans un mélange constitué de débris cellulaires et du reste du contenu intracellulaire.
- Soit le système d'expression est extracellulaire et la protéine est sécrétée à l'extérieur de la cellule dans son milieu de culture. Les cellules et le milieu de culture sont donc éliminés et la protéine est isolée.

Dans les deux cas, la protéine sera isolée, en suivant, en effectuant des opérations de centrifugation et de filtration en profondeur. Une filtration tangentielle sera ajoutée pour éliminer certaines particules indésirables et concentrer la protéine d'intérêt.

Ensuite une série d'étapes de chromatographie et de procédés de séparation membranaire visent à purifier la protéine.

La première étape de purification consiste à réaliser une chromatographie d'affinité permettant capturer la protéine d'intérêt et d'éliminer les impuretés. Lorsque la protéine est un anticorps monoclonal, on utilise la protéine A comme ligand sur la phase stationnaire. Le taux de purification atteint est de l'ordre de 90 %.

Au cours cette purification, la solution contenant le produit est soumise à une inactivation virale. En effet, les produits issus des biotechnologies sont sujets à des contaminations virales.

Pour augmenter la pureté, on retrouve d'autres étapes de chromatographies et filtration.

- La chromatographie par échange d'ions, qui élimine les protéines indésirables, les sels et les résidus. Ainsi, on parvient à obtenir un taux de purification jusqu'à 99%.
- La toute dernière étape, est appelée « polissage ». C'est une chromatographie d'interaction hydrophobe qui permet d'éliminer des impuretés à l'état de traces, comme les substances apparentées à la protéine d'intérêt tel que des polymères de protéines, des fragments ou encore des formes mal repliées.

D'autres étapes de filtration tangentielle peuvent être mises en place pendant le procédé pour préparer la solution au passage en chromatographie :

- Soit pour diminuer le volume d'élution, et augmenter la concentration, c'est ce qu'on appelle l'ultrafiltration (32).
- Soit pour changer la composition d'un solvant ; par exemple, pour modifier son pH par avec la diafiltration.

Enfin une élimination virale ainsi qu'une filtration stérilisante à travers des pores de 0,2 micromètres conclut le procédé pour un produit ayant une pureté visant les 100%.

La figure 13 représente un exemple de procédé de bioproduction sous forme d'un schéma.

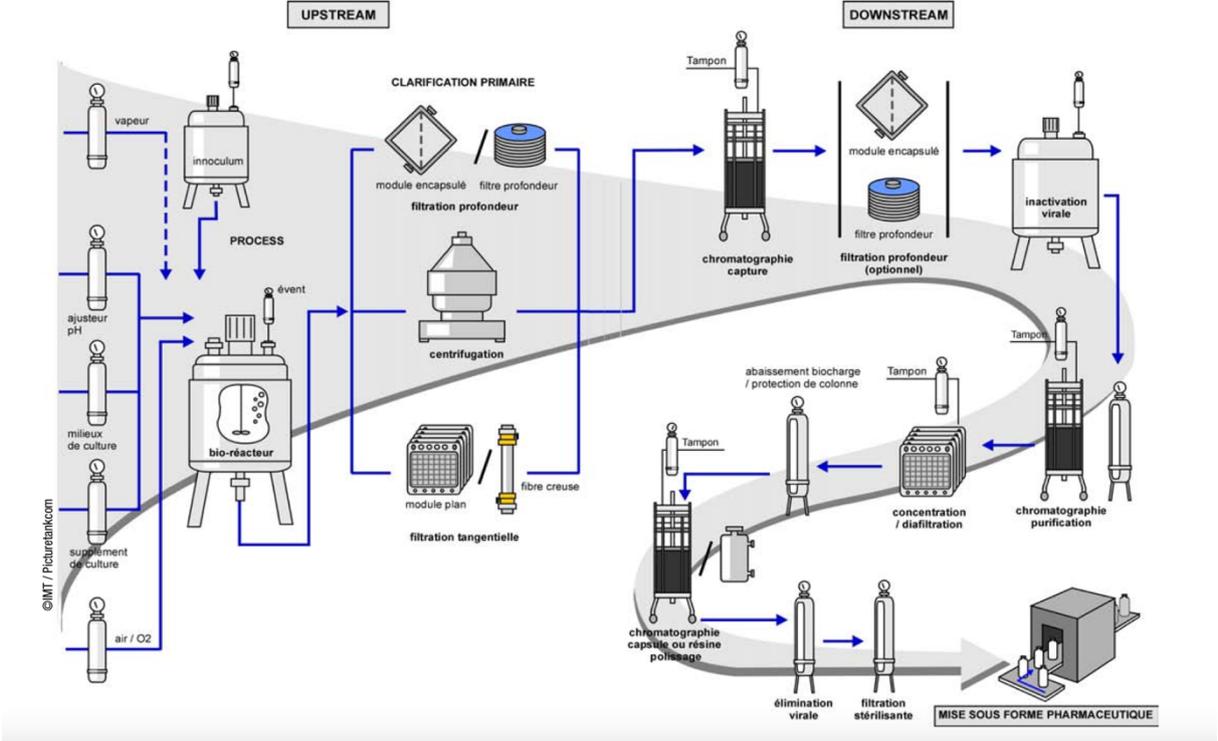


Figure 13 Schéma d'un exemple de procédé Upstream et Downstream de bioproduction (33)

### **II.1.6. La mise sous forme pharmaceutique**

La phase de formulation pharmaceutique, également connue sous le nom de galénique, représente une étape critique dans la fabrication des médicaments biologiques. Elle intervient généralement comme la dernière étape du procédé de purification. À ce stade, la substance médicamenteuse (Drug Substance ou DS) est formulée dans son tampon final, qui sera utilisé pour son stockage et sa conservation.

Cette formulation de la DS est cruciale car elle détermine la stabilité et l'efficacité du produit à long terme. La substance active est ainsi préparée dans une solution tampon contenant divers excipients soigneusement sélectionnés. Ces excipients jouent un rôle essentiel dans la préservation de l'intégrité de la protéine, en assurant sa solubilisation optimale et en prévenant la formation d'agrégats qui pourraient entraîner une perte d'efficacité thérapeutique ou des effets indésirables chez le patient.

Une fois formulée, la DS peut être stockée dans ce tampon de formulation, parfois pendant de longues périodes, en attendant les étapes ultérieures de fabrication du produit fini. Lors de la production du médicament final (Drug Product ou DP), la DS pourra être simplement diluée si nécessaire, sans modification majeure de sa formulation.

Pour la plupart des médicaments biologiques, l'administration par voie orale est souvent exclue, en raison de leur sensibilité aux enzymes gastro-intestinales. Les formes galéniques privilégiées sont alors les préparations lyophilisées, adaptées aux molécules qui le supportent, ou les formes injectables telles que les flacons, ampoules ou seringues. Pour les protéines, une formulation directe sous forme injectable est souvent préférée, avec l'ajout de sels pour ajuster le pH et d'adjuvants pour garantir la conservation.

Durant le processus de remplissage final, le produit est filtré à travers un filtre stérilisant et conditionné dans des emballages stériles selon des normes aseptiques strictes. Une fois formulées et conditionnées, les protéines thérapeutiques nécessitent une manipulation délicate tout au long de la chaîne de distribution, notamment en respectant la chaîne du froid, en les protégeant de la lumière et en évitant les chocs.

Cette approche de formulation en deux temps - d'abord la DS, puis le DP - permet d'optimiser la stabilité du produit tout au long du processus de fabrication et de distribution, tout en offrant la flexibilité nécessaire pour différentes présentations finales du médicament.

### **II.1.7. Les principales différences avec les médicaments dits « classiques »**

Contrairement aux médicaments dits classiques tels que le paracétamol ou encore l'acide acétylsalicylique (Aspirine), qui sont principalement des petites molécules synthétisées chimiquement et possédant une structure aisément caractérisable et bien définie ; les produits biopharmaceutiques présentent des défis uniques. Ils possèdent généralement un poids moléculaire plus élevé et une complexité structurale qui rend leur caractérisation difficile.

Comme nous l'avons abordé précédemment, les protéines ont une structure primaire, secondaire, tertiaire et quaternaire. Ces molécules sont composées d'une séquence d'AA (structure primaire) qui, bien qu'individuellement comparables en taille aux médicaments classiques, s'assemblent pour former des structures tridimensionnelles complexes. Cette organisation spatiale crée des motifs particuliers qui se répètent et contribuent à la fonction spécifique de la protéine.

Comme le présente la figure 14, on peut observer une différence d'un facteur 1000 entre les molécules simples et les plus grosses protéines. Cette différence de taille et de complexité souligne les défis uniques que représentent ces médicaments biologiques comparativement aux médicaments classiques.

Il est crucial de noter que dans le processus de synthèse et de purification de ces molécules biologiques, une part importante est consacrée à l'analyse. Le développement de méthodes de contrôle pour vérifier la pureté et donc le bon déroulement du processus est essentiel. Ces analyses permettent de comprendre au mieux la structure des protéines et de garantir leur uniformité.

En raison de cette complexité, il est nécessaire de recourir à une combinaison de tests analytiques pour caractériser pleinement ces molécules. Ces méthodes incluent, mais ne sont pas limitées à, la spectrométrie de masse, la chromatographie liquide à haute performance (HPLC), l'électrophorèse sur gel, et diverses techniques spectroscopiques. Cette approche multi-analytique permet non seulement de confirmer la structure et la pureté du produit final, mais aussi de surveiller et d'optimiser chaque étape du processus de production.

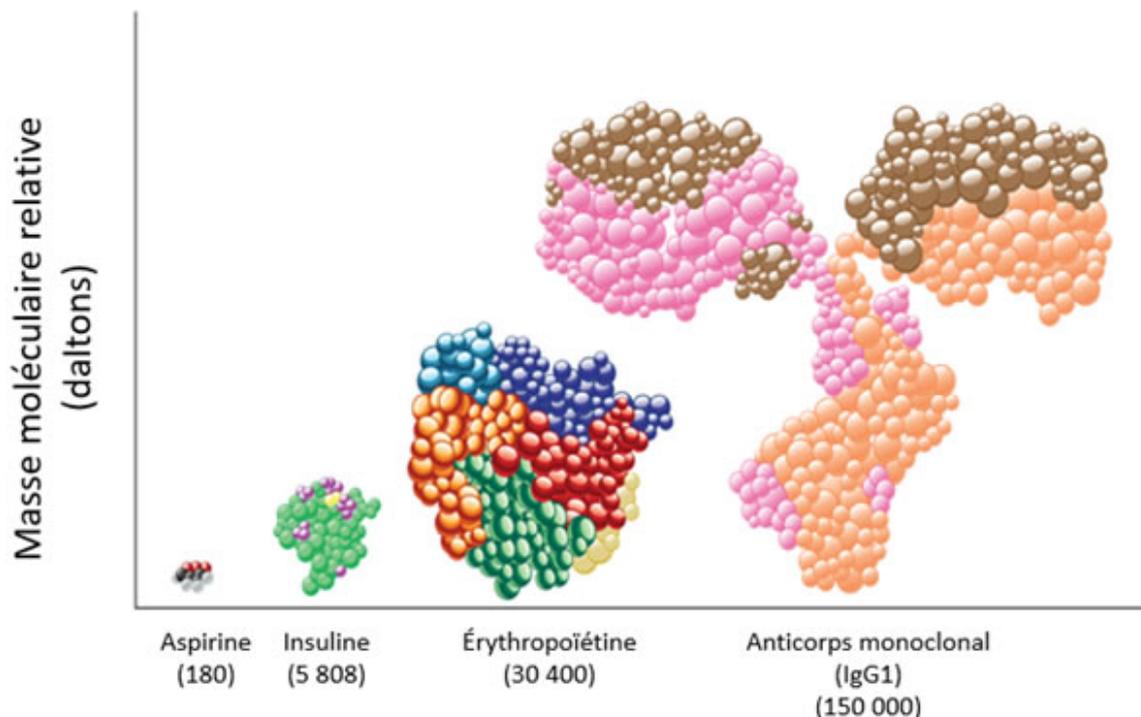


Figure 14 Comparaison entre différentes protéines et une molécule classique d'aspirine en fonction de la masse moléculaire relative (34)

Contrairement à la synthèse chimique des médicaments traditionnels, où l'on utilise des réactifs relativement simples dont la pureté et les contrôles permettent de maîtriser aisément la réaction ; la production de médicaments biologiques présente des défis uniques. Ces médicaments sont produits à partir d'organismes vivants, ce qui entraîne une complexité supérieure et une variabilité intrinsèque au processus.

Travailler avec le vivant n'est pas un processus linéaire et prévisible. Comme nous l'avons vu précédemment, les cellules utilisées pour la production de médicaments biologiques nécessitent des conditions optimales pour croître et produire la molécule d'intérêt. La moindre variation dans ces conditions peut avoir un impact significatif sur la qualité du produit obtenu.

Par exemple, pour certaines cellules, une carence en AA dans le milieu de culture peut amener la cellule à composer avec ce qu'elle a à disposition. Elle pourrait remplacer un AA du "code" de la protéine par un autre, créant ainsi un analogue de la protéine voulue, potentiellement difficile à séparer même par chromatographie. Cela peut entraîner un changement de l'activité du médicament et l'apparition d'effets indésirables. Ce cas se présente notamment pour les cellules d'*E. Coli* pour lesquelles il est recommandé de supplémenter le milieu en méthionine afin d'éviter que la cellule ne la remplace par de la norleucine dans la protéine synthétisée(35). Ainsi, cette variabilité inhérente aux systèmes biologiques souligne l'importance d'une surveillance rigoureuse tout au long du processus de production.

En résumé, bien que les médicaments biologiques offrent des avantages thérapeutiques significatifs, leur production nécessite une attention particulière aux conditions de culture et aux contrôles analytiques afin d'assurer leur qualité et leur efficacité. Cette complexité rend impératif le développement de méthodes robustes pour surveiller chaque étape du processus, garantissant ainsi que le produit final respecte les normes requises pour une utilisation clinique.

Une distinction majeure entre les médicaments chimiques et biologiques réside également dans leur potentiel immunogène (36), également connu sous le nom d'immunogénicité. En raison de leur taille, les médicaments chimiques sont souvent ignorés par le système immunitaire. En revanche, les molécules biologiques présentent un risque accru de déclencher des réactions immunitaires. Chez certains patients, l'organisme perçoit ces substances comme des éléments étrangers et produit des anticorps dirigés contre elles, appelés anticorps anti-médicaments.

À l'origine, les protéines animales telles que l'insuline bovine et porcine étaient utilisées en thérapie, mais leur origine étrangère était retenue comme étant la cause de leur d'immunogénicité. L'avènement de la technologie recombinante a permis de développer des produits similaires voire identiques aux protéines humaines natives. Cependant, malgré cette avancée, le problème d'immunogénicité persiste même avec l'utilisation de produits recombinants.

L'immunogénicité des protéines thérapeutiques est un défi majeur pour l'industrie pharmaceutique. Non seulement l'origine étrangère des protéines peut déclencher une réponse immunitaire, mais le caractère immunogène des agrégats protéiques est également pointé du doigt(37). Par conséquent, lors de la synthèse et de la purification des médicaments biologiques, une attention particulière est portée à la réduction des agrégats.

Étant donné que l'immunogénicité peut entraîner des complications cliniques graves, telles que la diminution de l'efficacité du traitement voire des complications mortelles, il est crucial d'identifier les facteurs contribuant à ce phénomène pour les médicaments biologiques. Certains de ces facteurs sont répertoriés dans la figure 15.

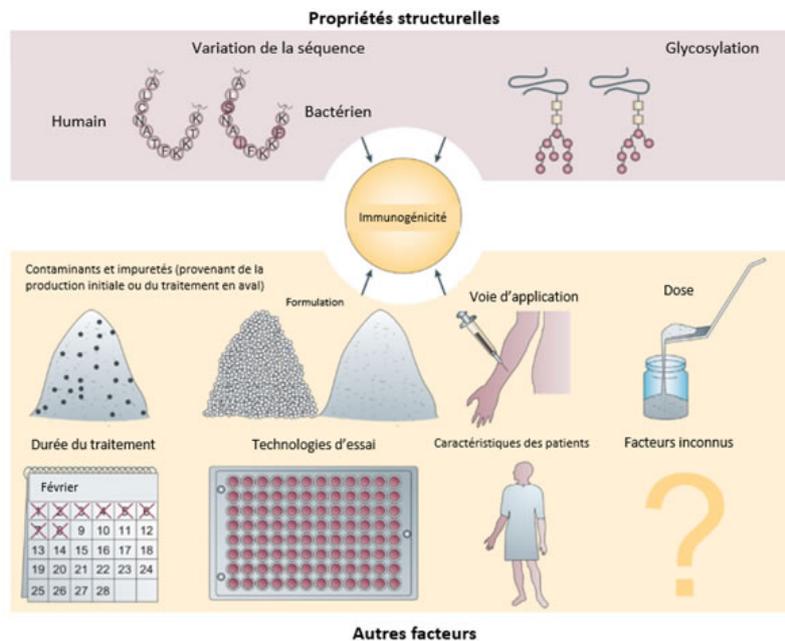


Figure 15 Quelques-uns des nombreux facteurs qui influencent l'immunogénicité des produits biopharmaceutiques(38)

La compréhension et la maîtrise de ces facteurs sont essentielles pour développer des médicaments biologiques plus sûrs et plus efficaces. Des approches prédictives, telles que l'évaluation de la capacité des protéines thérapeutiques à stimuler les lymphocytes T CD4 humains, sont actuellement utilisées pour anticiper et minimiser les risques d'immunogénicité(39).

Dans la plupart des cas, la présence d'anticorps dirigés contre les produits biopharmaceutiques n'a pas de conséquences néfastes ou entraîne l'inefficacité du traitement. Il peut aussi occasionnellement renforcer l'efficacité du traitement (40). Cependant, lorsque ces anticorps neutralisent des protéines ayant une fonction physiologique importante, des effets secondaires graves peuvent survenir, tels que des réactions allergiques sévères.

Bien que ces réactions ne se manifestent que chez un nombre limité de patients, dans certains cas, l'arrêt du traitement peut s'avérer nécessaire. Toutefois, dans d'autres cas, les bénéfices du traitement peuvent l'emporter sur les risques encourus. Dans ces situations, il est essentiel d'ajuster la posologie et de surveiller de près les paramètres biologiques et physiologiques afin de détecter toute complication potentielle.

## II.1.8. Exemples et historique d'utilisation de protéines recombinantes

L'utilisation de protéines à des fins thérapeutiques remonte à des millénaires, où des substances extraites d'organes animaux ou de plantes étaient utilisées pour traiter diverses maladies sans que leurs mécanismes d'action soient compris. Cependant, l'avènement de la biotechnologie moderne a révolutionné cette pratique, permettant la production en masse et la manipulation génétique des protéines à des fins médicales.

L'insuline est l'un des premiers exemples de traitement à base de protéine utilisé en médecine. Son isolation et sa purification à partir du pancréas de porcs et de bœufs par Frederick Banting et Charles Best en 1921 ont permis de traiter efficacement le diabète sucré. Plus tard, grâce au séquençage du génome humain, l'insuline humaine recombinante apparaît sur le marché en 1982, éliminant les risques de réactions allergiques et améliorant l'efficacité du traitement, notamment avec des formulations d'insuline dites rapides ou lentes(41).

Les enzymes ont été utilisées comme traitements pour diverses maladies métaboliques dès les années 1950. Par exemple, la trypsine et la chymotrypsine ont été employées pour traiter les œdèmes inflammatoires, tandis que la bromélaïne, extraite de l'ananas, a été utilisée comme anti-inflammatoire. L'utilisation d'enzymes comme traitement s'est depuis considérablement développée, notamment pour les maladies lysosomales. La maladie de Gaucher fut la première à bénéficier d'une thérapie enzymatique substitutive efficace. L'enzyme recombinante imiglucérase (Cerezyme®), approuvée en 1996, a permis de traiter avec succès des milliers de patients dans le monde. Ces avancées ont ouvert la voie au développement de traitements pour d'autres maladies lysosomales, comme la maladie de Pompe.

Les interférons, des protéines produites naturellement par le système immunitaire en réponse aux infections virales, ont été découverts dans les années 1950(42). Initialement identifiés pour leur rôle dans la réponse antivirale, les interférons ont trouvé des applications dans le traitement de diverses maladies, notamment certains cancers et l'hépatite virale en stimulant la réponse immunitaire contre les cellules infectées. Leur histoire illustre comment la compréhension des mécanismes biologiques peut mener à des applications thérapeutiques innovantes.

Les premiers traitements à base de protéines pour les troubles de la coagulation, tels que l'hémophilie, sont apparus dans les années 1970. Les facteurs de coagulation dérivés du plasma humain ont été utilisés avant l'introduction des facteurs recombinants comme le facteur VIII et le facteur IX dans les années 1990. Ces traitements permettent de remplacer les protéines manquantes chez les patients hémophiles, réduisant ainsi le risque de saignement excessif.

Les années 1980 ont vu l'avènement des anticorps monoclonaux, des protéines produites en laboratoire capables de cibler spécifiquement des molécules ou des cellules dans le corps. Le rituximab, approuvé en 1997, a été l'un des premiers anticorps monoclonaux utilisés pour traiter le lymphome non hodgkinien. Depuis, leur utilisation s'est étendue à d'autres domaines tels que l'auto-immunité et l'oncologie.

L'avènement de la technologie de l'ADN recombinant a permis la production en masse d'hormones telles que l'hormone de croissance humaine (hGH) et l'érythropoïétine (EPO). Ces hormones ont remplacé les versions extraites de cadavres(43) (pour l'hGH) ou d'urine (pour l'EPO), améliorant ainsi la sécurité et l'efficacité des traitements pour des conditions telles que le nanisme et l'anémie associée à l'insuffisance rénale chronique.

L'hormone de croissance humaine recombinante représente un autre exemple de succès dans le domaine des protéines thérapeutiques. Son développement, initié dans les années 1980, a permis de remplacer l'hormone extraite de glandes pituitaires humaines, améliorant ainsi la sécurité et l'accessibilité du traitement pour les patients atteints de troubles de croissance. Les avancées dans ce domaine ont non seulement amélioré le traitement des patients, mais ont également approfondi notre compréhension de la physiologie de la croissance

Les traitements à base de protéines ont considérablement évolué depuis les premiers jours de l'insuline extraite d'organes animaux. Ils offrent désormais une gamme diversifiée de solutions thérapeutiques pour un large éventail de maladies, allant des maladies métaboliques aux troubles immunitaires et oncologiques. Avec les avancées continues dans la biotechnologie et la recherche médicale, de nouveaux traitements à base de protéines continuent d'émerger, offrant de l'espoir pour l'amélioration des soins de santé dans le monde entier.

### **II.1.9. Les mécanismes d'action des médicaments à base de protéines recombinantes**

Les protéines recombinantes peuvent agir de différentes manières dans l'organisme, d'une part par remplacement d'une protéine manquante : Dans certaines maladies, l'organisme ne produit pas suffisamment d'une protéine essentielle. Les médicaments à base de protéines recombinantes peuvent alors remplacer cette protéine manquante(44). On retrouve également la stimulation de la production de protéines, certaines protéines recombinantes agissent comme des facteurs de croissance ou des hormones, stimulant la production d'autres protéines dans l'organisme. On peut également parler de l'inhibition d'une fonction protéique, dans certains cas, les protéines recombinantes peuvent bloquer l'action d'une protéine spécifique, utile dans le traitement de certaines maladies comme le cancer(45).

### **II.1.10. Les avantages et inconvénients**

Les protéines recombinantes offrent une spécificité d'action remarquable, permettant un ciblage précis des mécanismes moléculaires impliqués dans diverses pathologies. Cette précision se traduit par une réduction significative des effets secondaires, car l'action thérapeutique est concentrée sur les cibles spécifiques de la maladie. De plus, la technologie de l'ADN recombinant permet aux chercheurs de concevoir des protéines "sur mesure", adaptées à des applications thérapeutiques spécifiques. Cette capacité d'ingénierie moléculaire ouvre la voie à des traitements personnalisés et plus efficaces pour de nombreuses maladies complexes.

L'un des avantages majeurs des protéines recombinantes réside dans leur capacité de production illimitée et sécurisée. Les techniques de biotechnologie moderne permettent de produire de grandes quantités de protéines de manière constante, répondant ainsi à la demande croissante de traitements. Le processus de production est soumis à un contrôle qualité rigoureux à chaque étape, garantissant la pureté et l'efficacité du produit final. Cette approche réduit considérablement la dépendance aux sources animales ou humaines, éliminant ainsi les problèmes éthiques et les risques de pénurie associés aux méthodes traditionnelles d'extraction de protéines.

La production de protéines recombinantes présente un risque nettement réduit de contamination virale par rapport aux protéines extraites de tissus animaux ou humains. Le processus de production se déroule dans un environnement contrôlé et stérile, minimisant les risques de contamination par des agents pathogènes. Cette sécurité accrue élimine pratiquement le risque de transmission de maladies virales, un problème qui a historiquement affecté certains traitements à base de protéines extraites, notamment dans le cas des facteurs de coagulation pour les patients hémophiles.

Malgré leurs nombreux avantages, les protéines recombinantes sont associées à des coûts de production élevés. Ces coûts sont principalement dus aux investissements importants nécessaires en recherche et développement, ainsi qu'aux infrastructures et équipements sophistiqués requis pour leur production. Les processus de purification complexes, essentiels pour garantir la pureté et l'efficacité du produit final, contribuent également de manière significative à ces coûts. En conséquence, les traitements à base de protéines recombinantes sont souvent onéreux, ce qui peut limiter leur accessibilité pour certains patients ou systèmes de santé.

La plupart des protéines recombinantes ne peuvent pas être administrées par voie orale en raison de leur dégradation dans le système digestif. Cela nécessite généralement une administration parentérale, le plus souvent par injection sous-cutanée, intramusculaire ou intraveineuse. Cette contrainte peut réduire l'observance du traitement chez certains patients, en particulier dans le cas de traitements chroniques nécessitant des injections fréquentes. De plus, les injections répétées peuvent entraîner des risques d'infection locale ou de douleur au site d'injection, affectant potentiellement la qualité de vie des patients.

Un défi majeur associé aux protéines recombinantes est le risque de développement d'une réponse immunitaire contre le médicament. Le système immunitaire du patient peut reconnaître la protéine recombinante comme étrangère et produire des anticorps neutralisants, réduisant ainsi l'efficacité du traitement au fil du temps. Cette immunogénicité peut non seulement diminuer l'efficacité thérapeutique, mais aussi potentiellement provoquer des réactions allergiques ou d'hypersensibilité. La gestion de ces réponses immunitaires représente un défi important dans le développement et l'utilisation à long terme des thérapies à base de protéines recombinantes.

Les médicaments à base de protéines recombinantes offrent des possibilités thérapeutiques uniques, permettant de traiter des maladies auparavant difficiles à prendre en charge. Leur spécificité d'action et leur production sécurisée en font des outils précieux dans l'arsenal thérapeutique moderne. Cependant, leur coût élevé et les défis liés à leur administration restent des points à améliorer pour optimiser leur utilisation en pratique clinique.

## II.2. Les anticorps monoclonaux

Parmi les protéines recombinantes on retrouve un type de protéine particulier, les anticorps que l'on a évoqué dans la partie précédente mais qui représente une famille à part entière. Les anticorps sont les molécules effectrices de la réponse immunitaire adaptative à médiation humorale. L'immunité adaptative est le second mécanisme de défense de notre organisme contre les agents pathogènes, complémentaire à l'immunité innée.

L'immunité adaptative se met en place quelques jours après le contact avec un micro-organisme étranger(46) que l'on appelle antigène(47). Elle permet d'obtenir une réponse spécifique contre le pathogène présent, contrairement à l'immunité innée qui est plus générale(48). L'immunité adaptative est capable de reconnaître et cibler des agents pathogènes spécifiques, contrairement à l'immunité innée qui est plus générale. La mise en place de l'immunité adaptative prend généralement environ 7 jours, ce qui explique pourquoi ses effets n'apparaissent pas immédiatement après l'infection. L'immunité adaptative joue un rôle crucial dans notre défense contre les infections. Elle explique pourquoi on n'attrape qu'une seule fois certaines maladies comme la varicelle ou l'hépatite A. De plus, elle permet d'amplifier la réponse immunitaire globale et de fournir une protection spécifique et durable contre les agents pathogènes.

L'immunité adaptative repose sur deux types de cellules, les lymphocytes B, qui produisent des anticorps spécifiques au pathogène. Et les lymphocytes T, capables de reconnaître et détruire les cellules infectées.

Ces cellules confèrent deux types d'immunité adaptative, l'immunité humorale, assurée par les anticorps produits par les lymphocytes B. Et l'immunité à médiation cellulaire, assurée par les lymphocytes T. Un groupe de lymphocytes "mémoires" est stocké dans l'organisme, gardant le souvenir des agents pathogènes déjà rencontrés. Cela permet une réponse plus rapide et efficace lors d'une exposition ultérieure au même pathogène.

Il est à noter que l'on distingue deux types d'anticorps, les anticorps polyclonaux et les monoclonaux. Les anticorps polyclonaux(49) sont des protéines immunitaires produites par différentes lignées de lymphocytes B en réponse à un antigène spécifique. Lorsqu'un corps étranger pénètre dans l'organisme, il déclenche une réponse immunitaire qui aboutit à la production de plusieurs types d'anticorps, chacun reconnaissant un épitope différent de cet antigène. Les anticorps polyclonaux se distinguent par leur diversité, car ils peuvent reconnaître plusieurs épitopes sur un même antigène. Cette polyvalence leur permet de répondre efficacement à des variations de l'antigène. De plus, ces anticorps sont produits naturellement par le système immunitaire en réponse à une infection ou à une vaccination, ce qui leur confère une capacité d'adaptation face à des agents pathogènes variés. Ils sont principalement utilisés pour traiter les déficits immunitaires. On parle alors d'anticorps polyvalents. Le traitement consiste à administrer du plasma provenant de donneurs ayant un système immunitaire normal à des patients qui ne parviennent pas à produire suffisamment d'anticorps eux-mêmes.

Les anticorps monoclonaux, en revanche, sont des anticorps identiques produits par une seule lignée de lymphocytes B clonés. Ils sont fabriqués en laboratoire dans le but de cibler spécifiquement une maladie ou un antigène particulier. Cette technologie permet de créer des anticorps qui reconnaissent un seul épitope sur un antigène donné. Ils se caractérisent par leur spécificité, car ils ne reconnaissent qu'un seul épitope spécifique sur un antigène. De plus, tous les anticorps monoclonaux sont homogènes, ce qui signifie qu'ils possèdent la même structure et la même fonction. Leur production est contrôlée en laboratoire, ce qui garantit une qualité constante pour les applications thérapeutiques. Les anticorps monoclonaux sont largement utilisés dans le traitement d'une variété de pathologies. Ils sont particulièrement efficaces dans le traitement des cancers, où ils ciblent des protéines spécifiques présentes sur les cellules cancéreuses. De plus, ces anticorps sont également utilisés pour traiter certaines maladies auto-immunes en modulant la réponse immunitaire excessive. Enfin, ils jouent un rôle important dans la prévention du rejet des greffes en aidant à supprimer la réaction immunitaire contre les organes transplantés.

### II.2.1. La structure d'un anticorps

Les anticorps, également connus sous le nom d'immunoglobulines, sont des protéines complexes qui jouent un rôle central dans le système immunitaire adaptatif. Leur structure unique leur permet de reconnaître et de neutraliser des agents pathogènes spécifiques, tels que les bactéries et les virus, tout en activant d'autres composants du système immunitaire pour éliminer ces menaces.

La structure de base d'un anticorps ressemble à la lettre "Y", comme le présente la figure 16. Cette forme caractéristique est composée de quatre chaînes polypeptidiques : deux chaînes lourdes identiques et deux chaînes légères identiques. Ces chaînes sont reliées entre elles par des ponts disulfures, qui assurent la stabilité de la molécule tout en permettant une certaine flexibilité.

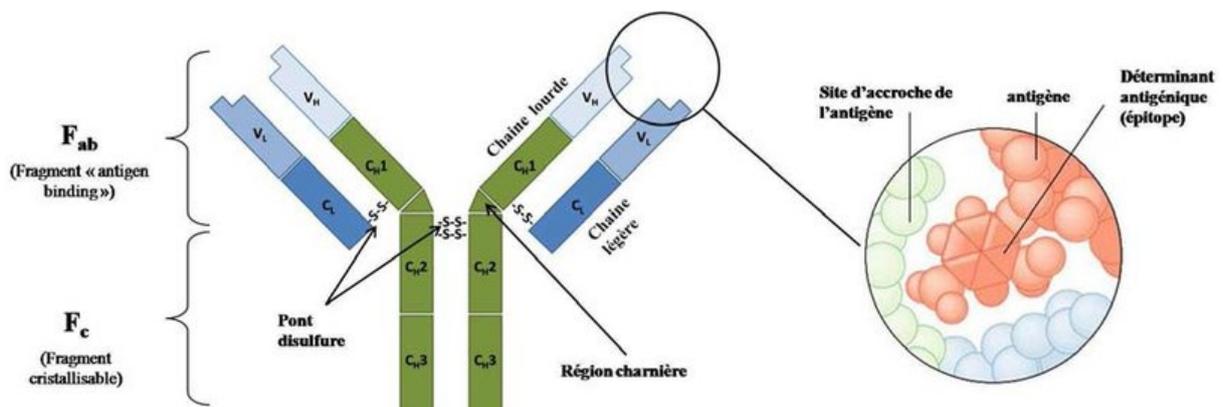


Figure 16 Structure schématique d'une immunoglobuline IgG(50) (©Pearson Education 2004)

Chaque chaîne de l'anticorps est divisée en domaines, des segments d'environ 110 AA qui se replient en une structure tridimensionnelle spécifique. Les chaînes légères sont composées de deux domaines : un domaine variable (VL) et un domaine constant (CL). Les chaînes lourdes, quant à elles, comprennent un domaine variable (VH) et trois ou quatre domaines constants plus long, d'environ 340 AA (CH1, CH2, CH3, et parfois CH4, selon la classe d'immunoglobuline).(51)

La molécule d'anticorps peut être divisée en deux régions fonctionnelles distinctes : le fragment Fab (Fragment antigen-binding) et le fragment Fc (Fragment crystallizable). Le fragment Fab, situé aux extrémités des bras du Y, est responsable de la liaison à l'antigène. Il est composé des domaines variables et des premiers domaines constants des chaînes lourdes et légères. C'est dans cette région que se trouve le paratope, le site spécifique de liaison à l'antigène. La partie de l'antigène auquel l'anticorps se fixe est quant à elle nommé épitope.

Le fragment Fc, qui forme la tige du Y, est constitué des domaines constants restants des chaînes lourdes. Cette partie de l'anticorps est responsable des fonctions effectrices, telles que l'activation du complément ou la liaison aux récepteurs Fc présents sur diverses cellules immunitaires. C'est le fragment Fc qui détermine la classe ou l'isotype de l'immunoglobuline.

Entre les fragments Fab et Fc se trouve une région charnière flexible. Cette flexibilité permet aux bras du Y de s'adapter à la forme de l'antigène, augmentant ainsi l'efficacité de la liaison.

La spécificité de l'anticorps pour un antigène particulier est déterminée par les régions variables des chaînes lourdes et légères. Au sein de ces régions variables se trouvent des zones encore plus variables appelées régions hypervariables ou CDR (Complementarity Determining Regions). Ces CDR forment des boucles à la surface de la molécule et constituent le site de liaison à l'antigène.

Il existe cinq classes principales d'immunoglobulines chez l'homme : IgG, IgA, IgM, IgD et IgE. Chaque classe a une structure unique de chaîne lourde qui lui confère des propriétés et des fonctions spécifiques. Par exemple, les IgG sont les anticorps les plus abondants dans le sérum et peuvent traverser le placenta, offrant une protection au fœtus. Les IgA sont principalement présentes dans les sécrétions muqueuses, tandis que les IgE jouent un rôle crucial dans les réactions allergiques.

Un aspect important de la structure des anticorps est leur glycosylation. Les anticorps sont des glycoprotéines, ce qui signifie qu'ils portent des chaînes de sucres attachées à certains AA, principalement dans la région Fc. Cette glycosylation influence les propriétés fonctionnelles de l'anticorps, notamment sa demi-vie dans la circulation et sa capacité à activer certaines réponses immunitaires.

La diversité des anticorps est stupéfiante. Le corps humain peut produire des milliards d'anticorps différents, chacun capable de reconnaître un antigène spécifique. Cette diversité est générée par plusieurs mécanismes, notamment le réarrangement génique des segments V, D et J lors du développement des lymphocytes B. Ce sont les segments géniques codant pour les chaînes des anticorps.

## II.2.2. Le mode d'action

Les anticorps ont une double fonctionnalité, d'une part la reconnaissance de l'antigène puis le traitement de celui-ci. La diversité du répertoire anticorps est immense, il est sans égal dans la nature. Ceci permet de reconnaître n'importe quel antigène présent. Après avoir capturé les Ag, ils activent leurs fonctions effectrices.

Il existe 5 principaux modes d'action :

1. Les anticorps neutralisants jouent un rôle crucial dans la protection de l'organisme en se liant spécifiquement aux agents pathogènes, tels que les virus et les bactéries, ainsi qu'aux toxines. En se fixant à ces cibles, ils bloquent les sites actifs nécessaires à leur interaction avec les cellules hôtes, empêchant ainsi l'infection ou l'effet toxique. Par exemple, dans le cas d'une infection virale, un anticorps neutralisant peut empêcher le virus de se fixer à son récepteur sur la surface cellulaire, ce qui prévient l'entrée du virus dans la cellule.
2. Les anticorps opsonisants facilitent le processus de phagocytose en se liant à la surface des agents pathogènes et en les "marquant" pour destruction. Lorsque ces anticorps se fixent à un pathogène, leur fragment Fc devient accessible aux récepteurs présents sur les cellules phagocytaires, comme les macrophages et les neutrophiles. Cette interaction améliore considérablement l'efficacité de la phagocytose, permettant aux cellules immunitaires d'ingérer et de détruire plus facilement les agents pathogènes.
3. Les anticorps cytolytiques sont capables de provoquer la destruction directe des cellules cibles par deux mécanismes principaux. Tout d'abord, lorsqu'ils se lient à une cellule cible, ils peuvent activer le système du complément, entraînant la formation d'un complexe d'attaque membranaire qui perce la membrane cellulaire. Deuxièmement, ces anticorps peuvent déclencher une cytotoxicité à médiation cellulaire dépendante des anticorps (ADCC), où leur fragment Fc est reconnu par des cellules effectrices comme les cellules tueuses naturelles (NK), qui libèrent alors des substances cytotoxiques pour détruire la cellule cible.
4. Les anticorps peuvent également agir comme agonistes ou antagonistes de récepteurs cellulaires. Les anticorps agonistes se lient à un récepteur spécifique et l'activent, mimant ainsi l'effet du ligand naturel et déclenchant une cascade de signalisation intracellulaire. En revanche, les anticorps antagonistes se fixent également à un récepteur mais sans l'activer ; cela bloque l'accès au ligand naturel et inhibe l'activation du récepteur ainsi que la voie de signalisation associée.
5. Les anticorps d'immunostimulation sont conçus pour renforcer ou moduler la réponse immunitaire. Ils peuvent agir en se liant à des récepteurs inhibiteurs sur les cellules immunitaires, bloquant ainsi les signaux qui freinent la réponse immunitaire et permettant une activation accrue des lymphocytes T et B. De plus, ces anticorps peuvent activer directement certaines cellules immunitaires via des récepteurs stimulateurs ou cibler et éliminer des cellules régulatrices qui suppriment normalement la réponse immunitaire.

### **II.2.3. Le processus d'obtention des anticorps monoclonaux**

Il y a plusieurs types d'anticorps thérapeutique en fonction du processus d'obtention. Premièrement les anticorps murins puisqu'ils ont été les premiers à être développés. Dans les années 1970, les chercheurs savaient déjà que certains cancers des lymphocytes B, appelés myélomes, produisaient de grandes quantités d'anticorps identiques. Cette observation a servi de base théorique pour les développements ultérieurs.

Le tournant décisif est survenu en 1975, lorsque Georges Köhler, un biologiste allemand, et César Milstein, un biochimiste argentin, tous deux travaillant au Laboratoire de biologie moléculaire de Cambridge au Royaume-Uni, ont mis au point une technique révolutionnaire pour produire des anticorps monoclonaux.

Leur méthode, appelée technique de l'hybridome, consistait à fusionner des lymphocytes B (qui produisent des anticorps mais ont une durée de vie limitée) avec des cellules de myélome (qui sont immortelles mais ne produisent pas d'anticorps spécifiques). Le résultat était une lignée cellulaire hybride capable de produire des anticorps spécifiques de manière continue.

La production d'anticorps monoclonaux débute par l'immunisation d'un animal, généralement une souris. L'antigène d'intérêt est injecté à la souris, suivi de plusieurs injections de rappel échelonnées sur plusieurs semaines. Ce processus stimule le système immunitaire de l'animal à produire des anticorps spécifiques contre l'antigène cible. La réponse immunitaire est surveillée en prélevant régulièrement du sang à la souris et en testant le titre d'anticorps dans le sérum.

Une fois que la réponse immunitaire est jugée suffisante, la souris est sacrifiée et sa rate est prélevée. Les splénocytes, qui comprennent les lymphocytes B producteurs d'anticorps à différents stades de différenciation, sont isolés de la rate. En parallèle, des cellules de myélome, qui sont des cellules cancéreuses de lymphocytes B, sont préparées. Ces cellules de myélome sont choisies spécifiquement pour être déficientes en l'enzyme HGPRT (Hypoxanthine-Guanine Phosphoribosyltransférase), ce qui sera crucial pour l'étape de sélection ultérieure.

L'étape suivante est la fusion cellulaire, où les splénocytes de la souris immunisée sont mélangés avec les cellules de myélome. La fusion est induite par l'ajout d'un agent fusogène, généralement le polyéthylène glycol (PEG). Ce processus crée des cellules hybrides, appelées hybridomes, qui combinent les caractéristiques des deux types cellulaires parents : la capacité de produire des anticorps spécifiques des splénocytes et l'immortalité des cellules de myélome.

Après la fusion, les cellules sont placées dans un milieu de culture sélectif appelé milieu HAT (Hypoxanthine-Aminoptérine-Thymidine). Ce milieu joue un rôle crucial dans la sélection des hybridomes. En effet, l'aminoptérine bloque une voie de synthèse des acides nucléiques. Cette voie peut être remplacée par une voie de récupération permettant la synthèse de nucléotides puriques et pyrimidiques s'il y a de l'hypoxanthine et de la thymidine à disposition. Pour cela il faut la présence de deux enzymes, la thymidine kinase et l'HGPRT.

La figure 17 représente les voies de synthèse des nucléotides et permet de comprendre l'impact du milieu HAT.

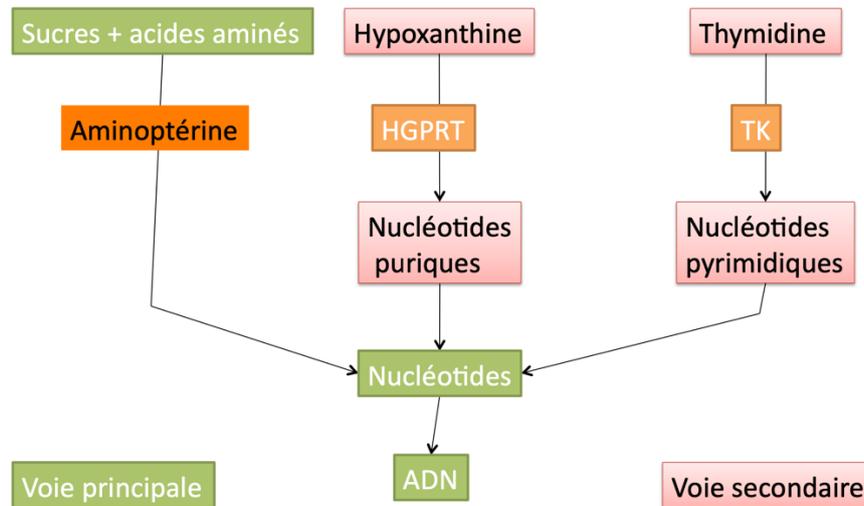


Figure 17 Voie de synthèse des nucléotides schématisé en rapport avec le milieu HAT

Les cellules de myélome non fusionnées ne peuvent pas survivre dans ce milieu en raison de leur déficience en HGPRT. Les splénocytes non fusionnés, bien qu'ils puissent survivre initialement, ont une durée de vie limitée en culture. Seuls les hybridomes, qui possèdent à la fois l'enzyme HGPRT des splénocytes et la capacité de croissance illimitée des cellules de myélome, peuvent proliférer dans ces conditions.

La figure 18 quant à elle permet de se représenter les trois possibilités de lignée cellulaire issue de la culture.

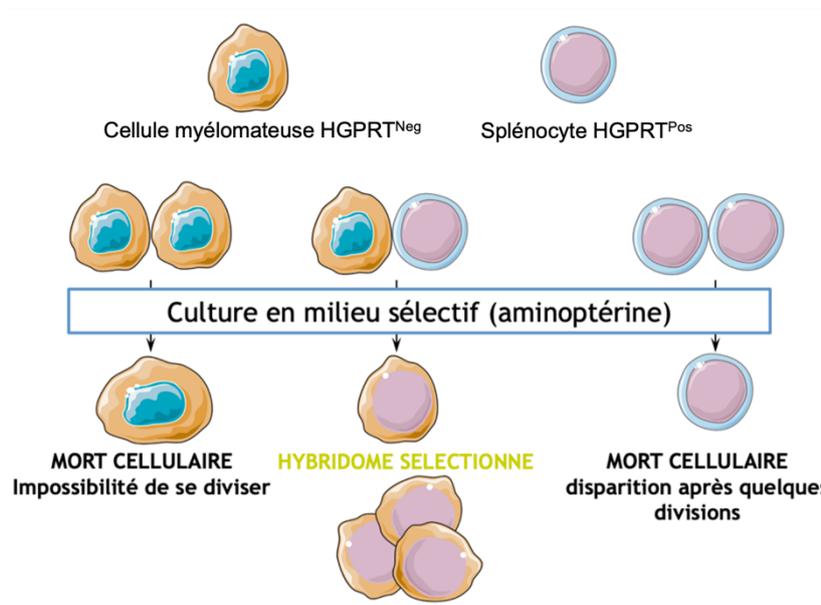


Figure 18 Principe de sélection des hybridomes en milieu sélectif HAT

Une fois que les hybridomes ont commencé à se multiplier, vient l'étape cruciale du criblage et de la sélection des clones. Les surnageants de culture de chaque puits contenant des hybridomes sont testés pour la présence d'anticorps spécifiques à l'antigène d'intérêt. Cette étape utilise généralement des techniques comme l'ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) pour évaluer la spécificité et l'affinité des anticorps produits.

Les hybridomes produisant les anticorps désirés sont ensuite clonés par dilution limitée. Cette technique consiste à diluer les cellules de manière à n'avoir statistiquement qu'une seule cellule par puits de culture. Cela garantit que chaque clone provient d'une seule cellule, assurant ainsi la monoclonalité des anticorps produits. Les clones positifs sont ensuite expandus pour augmenter la production d'anticorps.

La production à grande échelle peut alors commencer. Les hybridomes sélectionnés sont cultivés *in vitro* dans des bioréacteurs ou des flacons de grande taille. Alternativement, dans certains cas, ils peuvent être injectés dans la cavité péritonéale de souris pour produire des liquides d'ascite riches en anticorps, bien que cette méthode soit de moins en moins utilisée pour des raisons éthiques.

Enfin, les anticorps monoclonaux sont purifiés à partir du surnageant de culture ou du liquide d'ascite. La purification se fait généralement par chromatographie d'affinité, utilisant des colonnes qui capturent spécifiquement les anticorps. Cette étape finale permet d'obtenir des anticorps monoclonaux purs et concentrés, prêts à être utilisés en recherche, en diagnostic ou en thérapeutique.

Köhler et Milstein ont publié leurs résultats dans la revue *Nature* en 1975(52), décrivant cette technique comme un moyen de produire des "anticorps de spécificité prédéfinie".

L'importance de cette découverte a été rapidement reconnue par la communauté scientifique. Elle a ouvert la voie à la production d'anticorps spécifiques en grandes quantités, ce qui a eu des implications majeures tant pour la recherche que pour le développement de nouveaux traitements médicaux. Elle a d'autant plus ouvert la voie étant donné que le National Research Development Corporation refusa de breveter l'invention(53) car elle ne justifiait pas d'une application industrielle ou diagnostique ; participant ainsi à la diffusion rapide de la technique

En 1984, Köhler et Milstein, ainsi que Niels Jerne (pour ses travaux théoriques sur le système immunitaire), ont reçu le Prix Nobel de Physiologie ou Médecine pour cette découverte révolutionnaire.

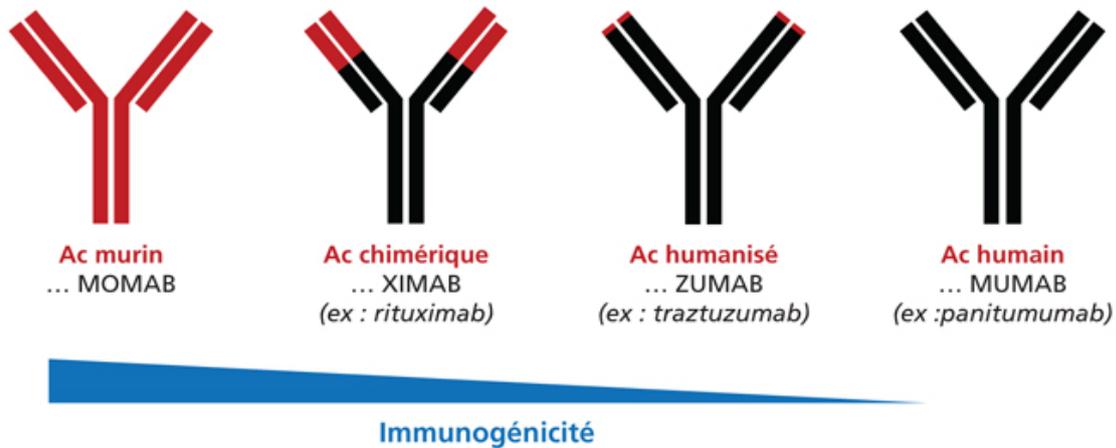
Les anticorps monoclonaux de souris présentent de nombreux avantages par rapport aux anticorps polyclonaux traditionnels. Produits par un seul clone de cellules, ils offrent une spécificité constante et une production illimitée sans nécessiter d'immunisations répétées ou de collectes de plasma. Cette méthode de production réduit également les risques infectieux et permet une maîtrise précise de la spécificité épitopique. Ces caractéristiques en font des outils polyvalents avec un large éventail d'applications, notamment dans l'étude de la distribution et de la fonction des protéines antigéniques, la purification d'antigènes, le diagnostic de maladies et les applications thérapeutiques. Leur homogénéité et leur spécificité en font des instruments de choix pour la recherche et le développement de nouvelles thérapies.

### II.2.3.1. Les anticorps monoclonaux chimérique

Malgré leurs nombreux avantages, les anticorps monoclonaux de souris présentent des limitations significatives lorsqu'ils sont utilisés chez l'homme. Bien qu'ils puissent cibler efficacement des molécules humaines spécifiques, leur origine murine entraîne plusieurs problèmes. Ils interagissent faiblement avec les composants du système immunitaire humain, notamment le complément et certains récepteurs(54), ce qui réduit leur efficacité thérapeutique. De plus, le système immunitaire humain les reconnaît comme étrangers, induisant la production d'anticorps anti-anticorps de souris. Cette réponse immunitaire peut non seulement diminuer l'efficacité du traitement mais aussi provoquer des réactions d'hypersensibilité potentiellement dangereuses. En conséquence, leurs indications thérapeutiques chez l'homme sont limitées. Face à ces limitations, il est devenu clair que le développement d'anticorps monoclonaux plus proches de la structure humaine, voire entièrement humains, était un objectif crucial pour surmonter ces obstacles thérapeutiques

La production d'anticorps monoclonaux humains s'est longtemps heurtée à des obstacles techniques et biologiques majeurs. Contrairement aux anticorps murins, l'hybridation somatique entre plasmocytes humains et cellules de myélome humain s'est avérée inefficace pour générer des lignées cellulaires stables productrices d'anticorps. L'alternative consistant à immortaliser des lymphocytes B humains à l'aide du virus d'Epstein-Barr a montré des rendements insuffisants pour une production à grande échelle. De plus, la tolérance naturelle du système immunitaire humain envers les antigènes du soi limite considérablement le répertoire d'anticorps pouvant être générés contre des cibles thérapeutiques potentielles. Ces défis ont longtemps freiné le développement d'anticorps monoclonaux entièrement humains. Cependant, une avancée majeure est survenue en 1976 avec les travaux de Suzumu Tonegawa sur le clonage des gènes codant les anticorps(55). Cette découverte a ouvert la voie à de nouvelles approches basées sur l'ingénierie génétique, permettant de surmonter les limitations initiales et ouvrant de nouvelles perspectives pour la production d'anticorps monoclonaux humains à des fins thérapeutiques.

Leur développement a été marqué par plusieurs étapes clés, chacune apportant des améliorations significatives dans la production et l'efficacité de ces outils thérapeutiques. Les anticorps chimériques, combinant des régions variables VH et VL murines avec des régions constantes humaines, ont constitué une première avancée(56,57). Ils ont été suivis par les anticorps humanisés, où seules les régions CDR restaient d'origine murine par greffe de régions hypervariables d'anticorps monoclonaux de souris sur des régions charpentes VH et VL humaines(58) ; ou par une approche consistant à donner un « profil » humain à un domaine VH ou VL murin, en ne changeant que certains AA des régions charpentes de ces domaines(59). Enfin, les anticorps entièrement humains ont été développés, soit par des techniques de présentation sur phages (phage display) consistant en la construction de banques combinatoires de domaines VH et VL humains, exprimés à la surface de virus bactériophages(60) ; soit par l'utilisation de souris transgéniques exprimant des gènes codant les chaînes lourdes et légères humaines(61,62). Ces évolutions ont permis de réduire progressivement l'immunogénicité des anticorps thérapeutiques tout en améliorant leur efficacité clinique. Les 4 types d'anticorps sont représentés dans la figure 19.



En noir : séquence d'origine humaine ; en rouge : séquence d'origine murine.

Figure 19 Les 4 types d'anticorps monoclonaux en fonction du degré de chimérisme. Le suffixe utilisé dans la dénomination commune internationale (DCI) est caractéristique de ce degré. L'immunogénicité décroît, en principe, avec la réduction de la partie murine(63)

Les régions constantes contiennent la majorité des épitopes immunodominants inter-espèces. Leur remplacement par des séquences humaines a donc permis de réduire significativement l'immunogénicité des anticorps thérapeutiques, même sans humanisation complète des régions variables(54). L'humanisation des régions constantes a été une première étape plus simple et rapide à mettre en œuvre, offrant déjà des avantages significatifs en termes de réduction de l'immunogénicité. L'humanisation des régions variables, bien que plus complexe, a ensuite été développée pour optimiser davantage les propriétés des anticorps thérapeutiques.

### II.2.3.2. Le phage display

L'humanisation des régions variable a été rendu possible notamment par la technique du phage display. Le principe fondamental du phage display repose sur la présentation de protéines ou de peptides à la surface d'un bactériophage, tout en conservant le gène codant pour ces molécules à l'intérieur du phage. Cette approche crée un lien physique direct entre le génotype (la séquence d'ADN) et le phénotype (la protéine exprimée), ce qui facilite grandement l'identification et l'isolement de protéines d'intérêt.

Le phage display permet de générer des anticorps monoclonaux humains en utilisant des bibliothèques de fragments d'anticorps exprimés à la surface de bactériophages. Cette technique contourne la nécessité d'immuniser des animaux et offre la possibilité de sélectionner des anticorps entièrement humains.

La première étape consiste à créer une vaste bibliothèque de gènes codant pour des fragments d'anticorps humains. Typiquement, on utilise des fragments variables à chaîne unique (scFv = single-chain variable fragment). C'est une protéine de fusion qui combine les régions variables des chaînes lourde (VH) et légère (VL) d'un anticorps, reliées par un court peptide de liaison comme on peut le voir sur la figure 20.

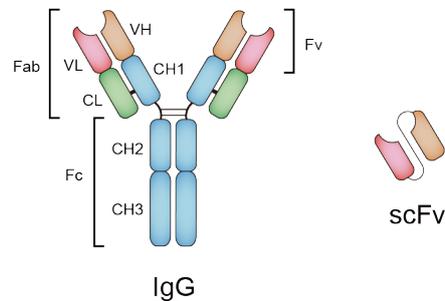


Figure 20 Représentation du fragments variables simple chaîne (scFv)(64)

Ces séquences de gènes sont obtenues à partir de donneurs humains ou générées synthétiquement pour maximiser la diversité.

Les gènes d'anticorps sont ensuite insérés dans le génome du phage, généralement fusionnés avec le gène de la protéine gene-3-protein (g3p) du phage M13, représenté en figure 21. C'est ce que l'on nomme un vecteur phage. La protéine g3p est une protéine de surface du phage M13, présente en 3 à 5 copies à l'extrémité du phage et impliquée dans l'infection des bactéries. Cette fusion permet l'expression des fragments d'anticorps à la surface du phage. Le phage M13 est utilisé car il fait partie de la famille des phages lysogènes, la bactérie reste intacte contrairement aux phages lytiques qui, eux, lysent la bactérie.

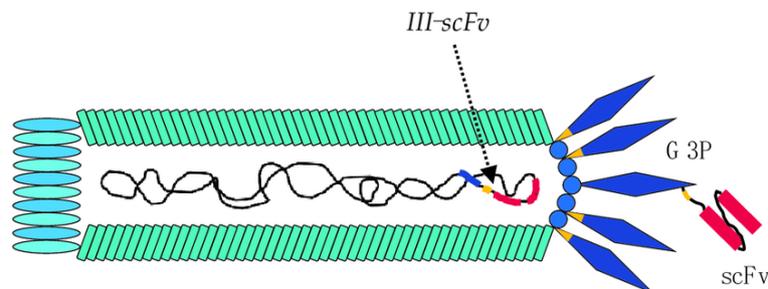


Figure 21 Représentation schématique d'un phage M13 avec le gène codant pour le fragment scFv dans son génome et l'exprimant sur une protéine de surface g3p(65)

Les gènes d'anticorps peuvent aussi être inséré dans un vecteur phagémide. Un phagémide est un vecteur hybride qui combine des éléments d'un plasmide et d'un bactériophage. Ils ne possèdent pas la totalité du génome du phage, uniquement la séquence de la protéine de surface (avec le gène codant pour l'anticorps) et une origine de réplication. Les phagémides ont la capacité de se maintenir et de se répliquer comme n'importe quel plasmide dans *E. coli*. Ils nécessitent cependant l'intervention d'un phage auxiliaire (helper) possédant une origine de réplication défectueuse mais qui apporte les autres protéines nécessaires à l'encapsidation du génome phagique, à la réplication et à l'assemblage du phage. Ainsi, le phagémide qui lui comporte une origine de réplication intacte est donc encapsidé préférentiellement dans les particules en cours d'assemblage. La culture contient alors environ plus de particules phagiques contenant le phagémide que de particules phagiques contenant le génome du phage auxiliaire

Dans les vecteurs de phages, la séquence codant la protéine d'intérêt est insérée directement dans la séquence de codage pour g3p. Lorsqu'il est introduit dans *E. coli*, un phage sera produit pour lequel toutes les copies de la protéine de surface affichent la protéine d'intérêt (c'est-à-dire que la protéine est affichée de manière polyvalente). Pour les phagémide, la protéine g3p du phage auxiliaire est en compétition avec la protéine g3p-anticorps du phagémide ce qui aura pour effet de donner un affichage monovalent de l'anticorps.(66) Ce qui permet de mesurer une affinité pure du couple anticorps-antigène.

Une fois la bibliothèque de phages construite, ces derniers sont utilisés pour infecter des bactéries hôtes, généralement *E. coli*. Au cours de l'infection, les bactéries produisent de nouvelles particules virales. Chaque particule virale nouvellement formée exprime à sa surface la protéine ou le peptide codé par la séquence insérée, fusionné à la protéine d'enveloppe du phage. Cette étape est cruciale car elle permet la présentation physique des protéines d'intérêt à l'extérieur du phage, les rendant accessibles pour les étapes de sélection ultérieures.

La sélection des anticorps spécifiques se fait par un processus appelé "biopanning"(67). L'antigène cible est immobilisé sur un support solide. La bibliothèque de phages est mise en contact avec l'antigène. Les phages exprimant des anticorps ayant une affinité pour l'antigène s'y lieront. Des lavages rigoureux éliminent les phages non liés ou faiblement liés. Les phages liés spécifiquement sont élués, généralement par un changement de pH ou par compétition avec l'antigène soluble. Les phages élués sont amplifiés en infectant de nouvelles bactéries *E. coli*. Ce processus est répété sur plusieurs cycles, généralement 3 à 5, pour enrichir la population en phages exprimant des anticorps de haute affinité pour l'antigène cible.

Après les cycles de sélection, les clones individuels sont isolés et caractérisés. Le gène de l'anticorps est séquencé pour déterminer sa structure primaire. Les fragments d'anticorps sont exprimés sous forme soluble et leur affinité pour l'antigène est mesurée par des techniques comme l'ELISA. Les fragments d'anticorps les plus prometteurs peuvent être convertis en anticorps entiers en ajoutant les régions constantes humaines appropriées. Les anticorps entiers sont ensuite produits dans des systèmes d'expression mammifères pour obtenir des glycosylations correctes et maintenir leur fonctionnalité.

Le phage display s'est ainsi imposé comme une méthode de choix pour la création d'anticorps monoclonaux humains à usage thérapeutique, avec plusieurs anticorps approuvés sur le marché et de nombreux autres en développement clinique(68).

#### **II.2.4. Vers des formats plus sophistiqués**

L'évolution des anticorps monoclonaux ne s'arrête pas à la chimérisation et à l'humanisation. La recherche continue d'innover pour créer des formats d'anticorps plus sophistiqués et plus efficaces.

Parmi ces nouvelles générations d'anticorps, les anticorps bispécifiques (BsAbs) représentent une avancée significative dans le domaine des anticorps thérapeutiques(69). Contrairement aux anticorps monoclonaux classiques qui ne ciblent qu'un seul antigène, les BsAbs peuvent se lier simultanément à deux antigènes différents ou à deux épitopes distincts sur le même antigène. Cette double spécificité ouvre la voie à de nombreuses applications thérapeutiques, notamment le recrutement et l'activation des cellules immunitaires pour cibler les cellules cancéreuses, le blocage simultané de deux voies de signalisation différentes ou encore la formation forcée de complexes protéiques

On y retrouve notamment le BiTE (Bispecific T-cell Engagers) représentés en figure 22, qui représentent une avancée significative(70,71). Ces molécules peuvent se lier simultanément à un antigène tumoral et au CD3 des lymphocytes T ce qui permet le recrutement et l'activation des cellules T au site tumoral et une cytotoxicité spécifique envers les cellules cancéreuses. Le blinatumomab, un BiTE ciblant CD19 et CD3, a déjà été approuvé pour le traitement de certaines leucémies. On peut citer également une innovation récente avec le développement de Nb-BiTEs(72), utilisant des nanobodies au lieu des fragments d'anticorps traditionnels.

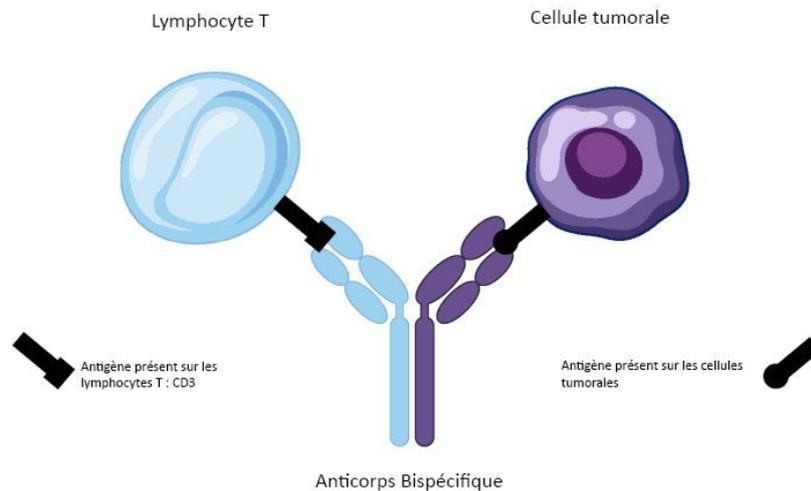


Figure 22 Représentation schématique d'un anticorps bispécifique(73)

Allant au-delà de la bispécificité, les anticorps multispécifiques sont capables de cibler trois antigènes ou plus. Ces formats complexes sont en cours de développement et pourraient offrir des options thérapeutiques encore plus précises et efficaces pour des maladies multifactorielles. Par exemple les TriKEs (Trispecific Killer Engagers) sont conçues pour engager les cellules NK via CD16, cibler un antigène tumoral spécifique et incorporer une cytokine comme l'IL-15 pour stimuler la prolifération et la survie des cellules NK(74)

Les anticorps conjugués (ADC - Antibody-Drug Conjugates), représentés par la figure 23, combinent la spécificité d'un anticorps monoclonal avec la puissance cytotoxique d'un agent thérapeutique. Cette approche permet une délivrance ciblée de médicaments hautement toxiques directement aux cellules cancéreuses, minimisant ainsi les effets secondaires sur les tissus sains(75).

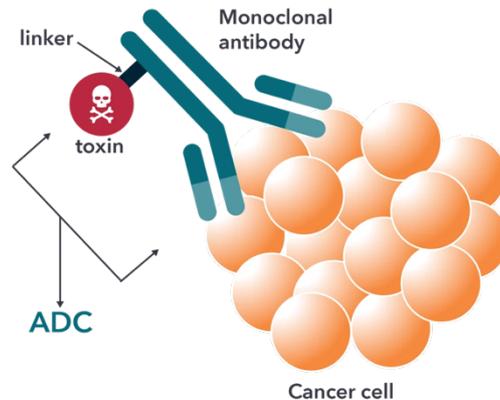


Figure 23 Représentation d'un anticorps conjugué(76)

Les fragments d'anticorps, tels que les scFv et les Fab, offrent des avantages en termes de pénétration tissulaire et de production. Ces formats plus petits peuvent être particulièrement utiles pour certaines applications thérapeutiques ou diagnostiques.

Les immunocytokines, imaginées en figure 24, représentent une classe novatrice d'agents thérapeutiques combinant la capacité de ciblage des anticorps avec les propriétés immunomodulatrices des cytokines. Ces protéines de fusion anticorps-cytokine visent à moduler l'immunité directement au site de la maladie(77). Elles peuvent délivrer des cytokines pro-inflammatoires dans le microenvironnement tumoral ou à l'inverse apporter des cytokines anti-inflammatoires dans les zones d'inflammation chronique. Par exemple, TAK-573 (Modakafusp alfa) est une immunocytokine qui utilise un anticorps pour délivrer l'interféron alpha-2b aux récepteurs CD38+ présents à la surface des cellules myélomateuses(78).



Figure 24 Représentation schématique d'une immunocytokine(79)

L'émergence de ces nouveaux formats d'anticorps témoigne du dynamisme et de l'innovation constante dans le domaine des biotechnologies médicales. La recherche continue dans ce domaine promet de révolutionner davantage notre approche du traitement des maladies complexes. Ces avancées ouvrent la voie à des traitements plus ciblés, plus efficaces et potentiellement moins toxiques pour une variété de maladies, allant du cancer aux maladies auto-immunes en passant par les maladies neurodégénératives.

## **II.3. Les thérapies cellulaires et géniques**

Les thérapies cellulaires et géniques représentent deux domaines étroitement liés et en pleine expansion dans le paysage des biotechnologies médicales. Bien que distinctes dans leurs approches initiales, ces thérapies convergent souvent dans des applications cliniques

### **II.3.1. Les principes de base des thérapies cellulaires et géniques**

#### **II.3.1.1. La thérapie cellulaire**

La thérapie cellulaire représente une approche innovante dans le domaine des biothérapies, se définissant comme l'administration thérapeutique de cellules vivantes à des patients.

##### **II.3.1.1.1. Définition et concept**

Cette méthode englobe l'utilisation de cellules autologues (provenant du patient lui-même), allogéniques (issues d'un donneur de la même espèce), et dans certains cas, xénogéniques (provenant d'une espèce différente). L'objectif principal de cette thérapie est de prévenir, traiter ou atténuer diverses pathologies en exploitant les propriétés biologiques uniques des cellules.

Le champ d'application de la thérapie cellulaire est remarquablement vaste, couvrant un large spectre de types cellulaires. Cela va des cellules embryonnaires pluripotentes, capables de se différencier en de nombreux types cellulaires, aux cellules adultes hautement spécialisées telles que les hépatocytes (pour les fonctions métaboliques) ou les chondrocytes et myoblastes (pour les fonctions mécaniques). Entre ces deux extrêmes, on trouve les cellules souches hématopoïétiques (CSH), essentielles à la formation des lignées sanguines, ainsi que les cellules sanguines mononucléées, notamment les lymphocytes T, jouant un rôle crucial dans l'immunothérapie.

L'essor de la thérapie cellulaire au cours des deux dernières décennies a été marqué par le concept révolutionnaire de "cellules médicament". Cette idée, ancrée dans le succès des greffes de cellules souches hématopoïétiques, a été propulsée par des avancées conceptuelles et précliniques significatives. Des jalons cliniques importants, tels que les travaux pionniers de l'équipe d'Alain Fischer à l'hôpital Necker sur les immunodéficiences(80), les progrès en immunothérapie contre le cancer, et les essais prometteurs de greffes de cellules souches, ont consolidé la place de la thérapie cellulaire dans l'arsenal thérapeutique moderne.

Le principe fondamental des cellules médicament repose sur une idée apparemment simple mais profondément novatrice : l'injection de cellules à des fins thérapeutiques. Ces cellules ont la capacité de s'intégrer dans l'organisme du receveur, parfois de manière durable, et de compenser une fonction déficiente grâce à leurs propriétés biologiques spécifiques. Cette approche incarne une nouvelle forme de médecine basée sur le vivant, ouvrant la voie à des traitements personnalisés et potentiellement curatifs pour des maladies jusqu'alors difficiles à traiter.

### **II.3.1.1.2. Les types de cellules utilisées**

La thérapie cellulaire exploite une variété de types cellulaires, chacun présentant des caractéristiques et des potentiels thérapeutiques uniques. Les cellules souches adultes, notamment les cellules souches hématopoïétiques (CSH) et les cellules souches mésenchymateuses (CSM), constituent une ressource précieuse. Les CSH, extraites de la moelle osseuse ou du sang de cordon ombilical, sont capables de se différencier en tous les types de cellules sanguines, ce qui les rend particulièrement utiles dans le traitement des maladies hématologiques. Les CSM, quant à elles, se trouvent dans divers tissus adultes et possèdent la capacité de se différencier en cellules osseuses, cartilagineuses et adipeuses, offrant ainsi un large éventail d'applications thérapeutiques, notamment dans la médecine régénérative.

Les cellules souches embryonnaires, dérivées de la masse cellulaire interne du blastocyste, représentent une autre catégorie importante. Leur pluripotence, c'est-à-dire leur capacité à se différencier en tous les types cellulaires de l'organisme, en fait des candidates prometteuses pour de nombreuses applications thérapeutiques. Cependant, leur utilisation soulève des questions éthiques et réglementaires complexes. Une alternative récente et prometteuse est l'utilisation de cellules souches pluripotentes induites (iPS). Obtenues par reprogrammation de cellules adultes, les iPS présentent des propriétés similaires aux cellules souches embryonnaires, tout en évitant les controverses éthiques. Elles offrent également l'avantage de pouvoir créer des lignées cellulaires spécifiques au patient, réduisant ainsi les risques de rejet immunologique.

Enfin, les cellules différenciées, telles que les hépatocytes, les chondrocytes ou les myoblastes, jouent également un rôle crucial en thérapie cellulaire. Ces cellules spécialisées sont utilisées pour des applications ciblées, visant à restaurer la fonction de tissus ou d'organes spécifiques. Par exemple, les hépatocytes peuvent être utilisés pour traiter certaines maladies du foie, tandis que les chondrocytes sont employées dans la réparation du cartilage articulaire.

### **II.3.1.1.3. Les mécanismes d'action en thérapie cellulaire**

Les mécanismes d'action des cellules utilisées en thérapie cellulaire sont multiples et souvent complexes, reflétant la diversité des approches thérapeutiques dans ce domaine. Le remplacement cellulaire est l'un des mécanismes les plus directs. Dans ce cas, les cellules transplantées remplacent physiquement les cellules endommagées ou dysfonctionnelles de l'organisme receveur. Un exemple classique est la transplantation de cellules souches hématopoïétiques pour reconstituer le système immunitaire après une chimiothérapie intensive. Ces cellules s'implantent dans la moelle osseuse et génèrent de nouvelles lignées de cellules sanguines, restaurant ainsi la fonction hématopoïétique.

La réparation tissulaire constitue un autre mécanisme important. Les cellules transplantées, en particulier les cellules souches mésenchymateuses, peuvent stimuler la réparation des tissus endommagés. Elles y parviennent en sécrétant des facteurs de croissance et des cytokines qui favorisent la régénération tissulaire. Par exemple, dans le traitement de l'arthrose, les CSM injectées dans l'articulation peuvent favoriser la réparation du cartilage en stimulant la production de matrice extracellulaire et en réduisant l'inflammation locale.

La modulation de l'environnement tissulaire est un troisième mécanisme crucial. Les cellules transplantées peuvent modifier l'environnement local pour favoriser la guérison ou atténuer les processus pathologiques. Cet effet est particulièrement important dans le traitement des maladies inflammatoires et auto-immunes. Les CSM, par exemple, exercent des effets immunomodulateurs puissants, réduisant l'inflammation et régulant la réponse immunitaire. Elles peuvent inhiber la prolifération des lymphocytes T et moduler la fonction des cellules dendritiques, contribuant ainsi à rétablir l'homéostasie immunitaire.

L'effet paracrine représente un mécanisme d'action de plus en plus reconnu. Les cellules transplantées sécrètent une variété de molécules bioactives, collectivement appelées sécrétome, qui influencent le comportement des cellules environnantes. Ces molécules peuvent stimuler la prolifération cellulaire, inhiber l'apoptose, favoriser l'angiogenèse ou moduler la réponse immunitaire. L'effet paracrine explique en partie pourquoi les thérapies cellulaires peuvent avoir des effets bénéfiques même lorsque les cellules transplantées ne s'intègrent pas de manière permanente dans les tissus du receveur.

Enfin, le transfert mitochondrial<sup>(81)</sup> est un mécanisme d'action récemment découvert, particulièrement pertinent dans le contexte des maladies mitochondriales et des lésions tissulaires. Dans ce processus, les cellules transplantées, notamment les CSM, peuvent transférer des mitochondries fonctionnelles aux cellules endommagées du receveur. Ce transfert peut restaurer la fonction énergétique des cellules affectées, améliorant ainsi leur survie et leur fonctionnement.

Il est important de noter que ces mécanismes d'action ne sont pas mutuellement exclusifs et peuvent souvent agir de concert, offrant des effets thérapeutiques synergiques. La compréhension approfondie de ces mécanismes est cruciale pour optimiser les protocoles de thérapie cellulaire et développer de nouvelles approches thérapeutiques plus efficaces.

### II.3.1.2. La thérapie génique

La thérapie génique représente une approche révolutionnaire dans le domaine de la médecine moderne, visant à traiter ou prévenir des maladies en modifiant le matériel génétique des cellules d'un patient.

#### II.3.1.2.1. Définition et concept

Cette technique, dont les origines remontent aux années 1960(82), a connu des avancées significatives au cours des dernières décennies, offrant de nouvelles perspectives pour le traitement de diverses pathologies, allant des maladies génétiques rares aux cancers. Le concept de thérapie génique a émergé à la fin des années 1960, mais il a fallu attendre 1989 pour voir le premier essai clinique, initié par S. Rosenberg aux États-Unis. Depuis lors, le domaine a connu des avancées significatives, mais aussi des revers, notamment avec l'incident tragique de 1999 où un patient est décédé lors d'un essai clinique(83). Ces événements ont conduit à une réévaluation des protocoles de sécurité et à une approche plus prudente du développement de la thérapie génique.

La thérapie génique, dont le principe est schématisé en figure 25, se définit comme l'introduction de matériel génétique, tel que de l'ADN ou de l'ARN, dans les cellules ou les tissus d'un individu dans le but de traiter une maladie. L'objectif principal de cette approche est de corriger une anomalie génétique, de remplacer un gène défectueux par une version fonctionnelle, ou d'introduire un nouveau gène capable de produire une protéine thérapeutique. En rétablissant la fonction cellulaire normale ou en conférant aux cellules de nouvelles capacités pour combattre une pathologie, la thérapie génique représente un changement radical dans la manière dont certaines maladies peuvent être abordées.

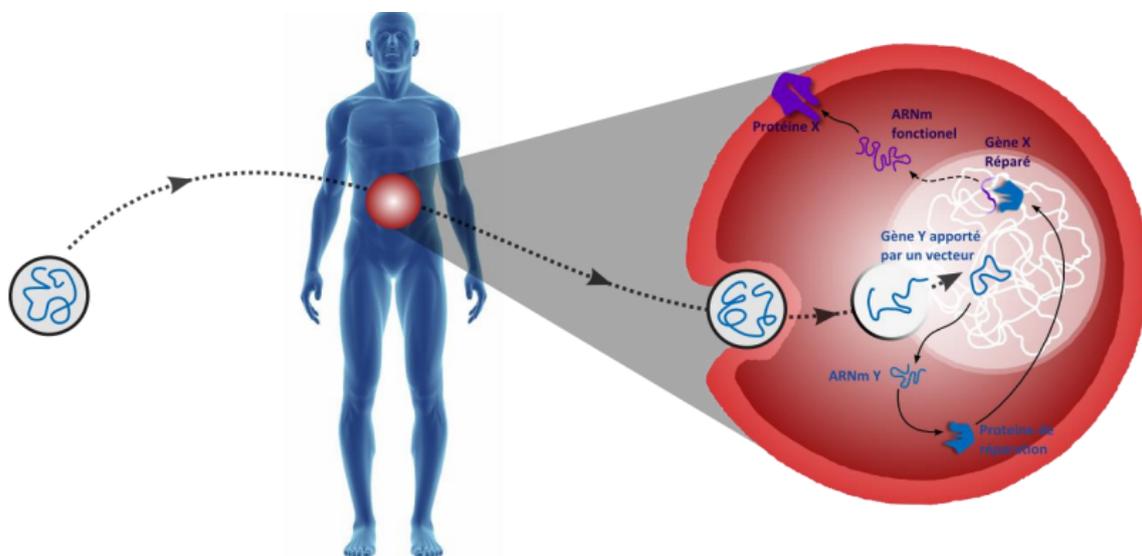


Figure 25 Définition schématique de la thérapie génique

### II.3.1.2.2. Les approches in vivo et ex vivo

La thérapie génique peut être réalisée selon deux approches principales qui sont représentées dans la figure 26. L'approche in vivo consiste à administrer directement le matériel génétique thérapeutique dans l'organisme du patient, ciblant ainsi les cellules ou les tissus affectés. Cette méthode est particulièrement utile pour traiter des organes difficiles d'accès ou des maladies qui touchent plusieurs types de tissus simultanément. En revanche, l'approche ex vivo implique le prélèvement de cellules chez le patient, leur modification génétique en laboratoire, leur culture afin de les multiplier, puis leur réinjection dans l'organisme. Cette méthode est souvent utilisée pour traiter des maladies sanguines ou des troubles du système immunitaire, car elle permet un contrôle plus précis sur les cellules modifiées avant leur administration.

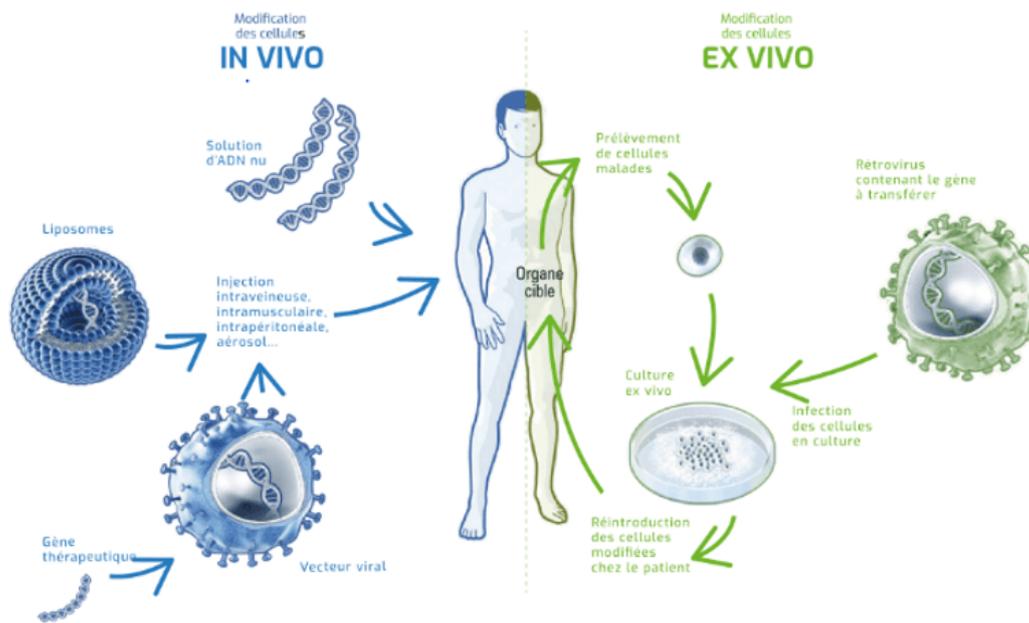


Figure 26 Représentation schématique des deux voies de la thérapie génique(84)

### II.3.1.2.3. Vecteurs de transfert de gènes

Pour introduire le matériel génétique dans les cellules cibles, différents types de vecteurs, représentés par la figure 27, sont utilisés. Les vecteurs viraux sont parmi les plus couramment employés en raison de leur efficacité à transférer du matériel génétique. Parmi eux, les vecteurs virus adéno-associés recombinants (AAV)(85) sont particulièrement efficaces pour cibler des tissus tels que le foie, le muscle et le système nerveux. Les vecteurs lentiviraux sont également très performants pour cibler les cellules du système sanguin. D'autre part, les rétrovirus permettent d'intégrer le gène thérapeutique dans le génome de la cellule hôte, ce qui peut être bénéfique pour certaines applications thérapeutiques. En plus des vecteurs viraux, il existe également des vecteurs non viraux tels que les liposomes et les nanoparticules, qui permettent l'injection directe d'ADN nu. Bien que ces méthodes soient généralement moins efficaces que leurs homologues viraux, elles présentent souvent moins de risques d'immunogénicité.

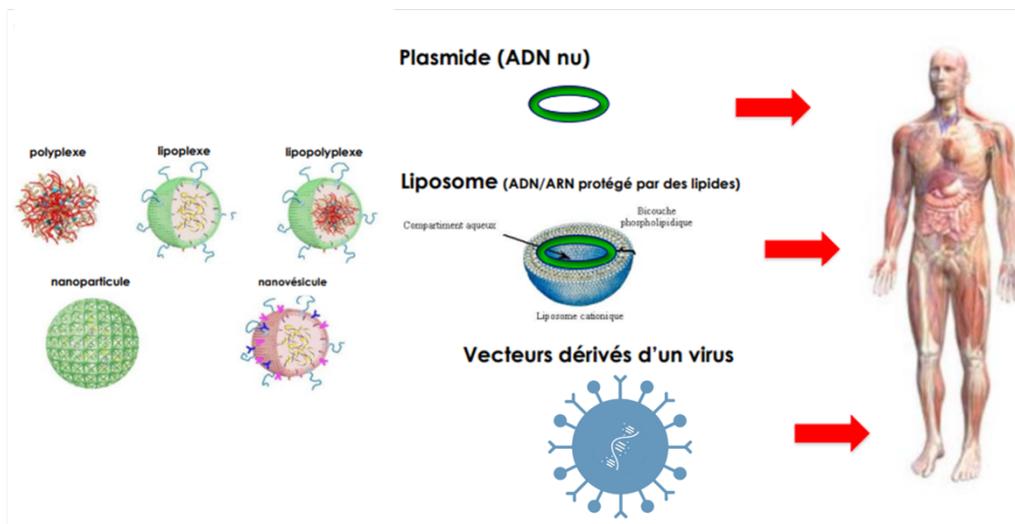


Figure 27 Les vecteurs en thérapie génique

### II.3.1.2.4. Les techniques d'édition génomique

Les avancées récentes en matière d'édition génomique ont ouvert de nouvelles perspectives passionnantes pour la thérapie génique. La technique CRISPR-Cas9(86) est particulièrement révolutionnaire car elle permet une modification précise et ciblée du génome. Souvent décrite comme des "ciseaux moléculaires", cette approche offre la possibilité de corriger directement les mutations génétiques responsables de maladies plutôt que d'ajouter simplement une copie fonctionnelle du gène défectueux. D'autres techniques d'édition génomique, telles que les nucléases à doigt de zinc (ZFN) et les TALEN (Transcription Activator-Like Effector Nucleases), sont également explorées pour leur potentiel en thérapie génique.

### **II.3.1.2.5. L'application clinique**

La thérapie génique était destinée à traiter les maladies rares au départ puis s'est étendue. Les maladies génétiques rares concernent environ 3 millions de personnes en France (4,5%)(87). La plupart (80%) des 7 000 maladies rares sont d'origine génétique et la moitié concernent des enfants de moins de 5 ans. Tous les organes et tissus peuvent être touchés (sang, système immunitaire, cerveau, muscle, cœur, foie, peau, œil, ...). On peut citer les maladies monogéniques telles que l'hémophilie et la mucoviscidose, ainsi que les dystrophies musculaires comme celle de Duchenne. Ce sont des pathologies pour lesquels il n'existe pas de traitement curatif, et la thérapie génique représente le seul espoir pour les familles. Le Consortium international de recherche sur les maladies rares (IRDIRC) s'est fixé comme objectif d'obtenir un traitement pour 1 millier de maladies rares à 2027.(88)

De plus, cette approche est utilisée dans le développement d'immunothérapies géniques pour traiter certains cancers. Les chercheurs explorent également son utilisation dans les maladies neurodégénératives comme la maladie de Parkinson et la maladie d'Alzheimer. Enfin, certaines études se penchent sur son application dans les maladies cardiovasculaires et même dans le traitement d'infections virales comme le VIH.

En somme, bien que la thérapie génique soit encore largement expérimentale, elle représente une voie prometteuse pour le traitement de nombreuses maladies jusqu'alors incurables. Les progrès continus dans ce domaine, notamment en matière de sécurité et d'efficacité des vecteurs utilisés ainsi que le développement de techniques d'édition génomique plus précises, laissent entrevoir un avenir où la manipulation génétique ciblée pourrait devenir une option thérapeutique courante pour un large éventail de pathologies.

### II.4.1.1. Les CAR-T : une convergence des thérapies cellulaires et géniques

Pour mettre en lumière la convergence entre thérapie cellulaire et génique, un exemple bien particulier : la thérapie par cellules CAR-T (Chimeric Antigen Receptor T-cell). Cette thérapie innovante, à la croisée de la thérapie cellulaire et de la thérapie génique, incarne parfaitement l'évolution vers des traitements personnalisés et hautement ciblés.

#### II.4.1.1.1. Concept et développement des CAR-T

Les CAR-T sont des lymphocytes T génétiquement modifiés pour exprimer un récepteur antigénique chimérique à leur surface. Ce récepteur permet aux cellules T de reconnaître et d'attaquer spécifiquement les cellules cancéreuses portant l'antigène cible. Le principe, représenté dans la figure 28, est donc de prélever les Lymphocytes T du patient puis de les modifier génétiquement. Ces Lymphocytes T sont ensuite sélectionnés afin de s'assurer qu'ils aient bien été modifiés. Puis ils sont amplifiés et réinjectés au patient.

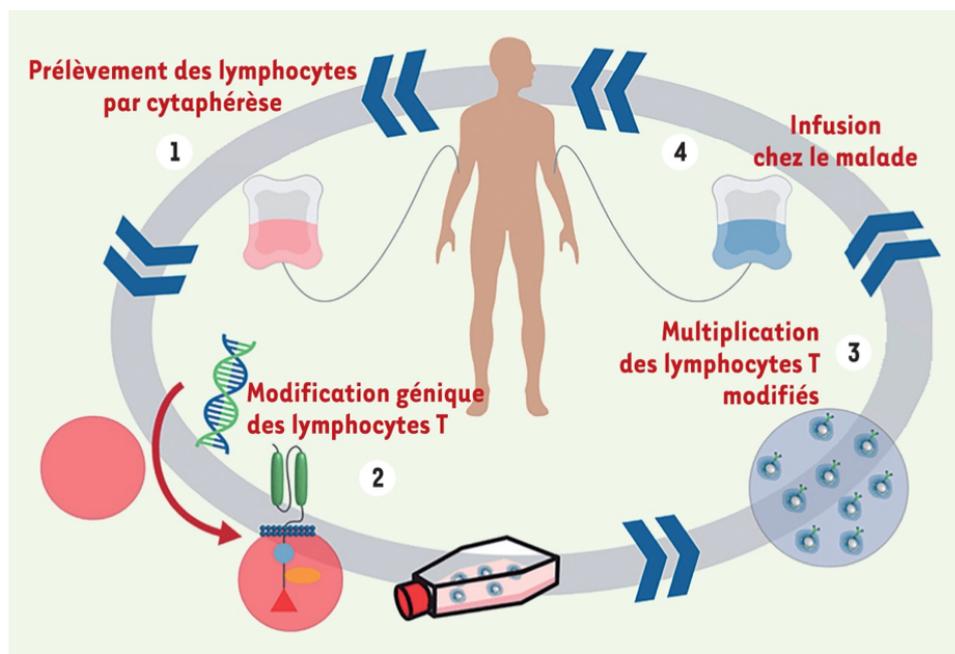


Figure 28 Principe de la thérapie par CAR-T

Le concept des CAR-T a émergé dans les années 1980(89), avec les premiers travaux sur la modification génétique des lymphocytes T. Les premières études cliniques ont débuté dans les années 2000, et les premiers succès majeurs ont été rapportés dans le traitement des leucémies lymphoblastiques aiguës en 2011. En 2017, les premières thérapies CAR-T ont été approuvées par la FDA aux États-Unis.

### II.4.1.1.2. Structure et fonction du récepteur antigénique chimérique (CAR) :

Pour qu'un lymphocyte s'active, il y a besoin de plusieurs communications entre différents types cellulaires, il a besoin qu'on lui présente l'antigène qu'il doit reconnaître (contrairement au Lymphocyte NK qui peut s'activer tout seul).

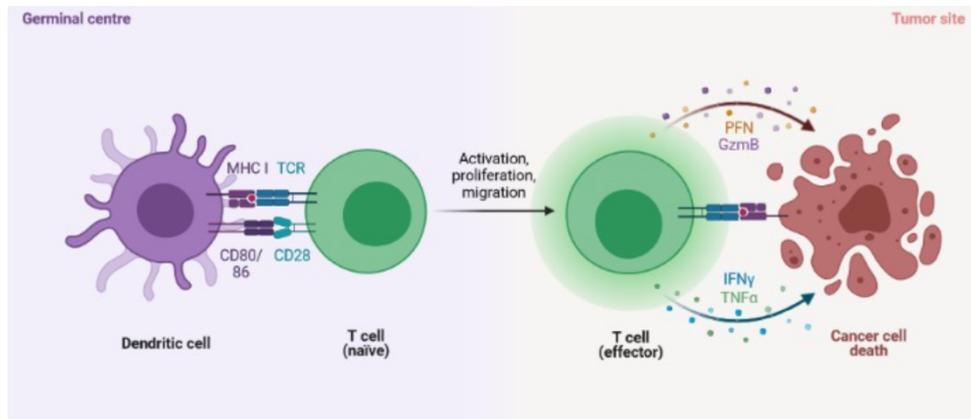


Figure 29 Activation d'un lymphocyte T classique(90)

Sur la figure 29 qui représente une activation classique d'un lymphocyte T, la cellule présentatrice de l'antigène (cellule dendritique) grâce à son complexe majeur d'histocompatibilité (CMH), présente l'antigène au niveau du récepteur du lymphocyte T (TCR). Il y a également besoin des molécules de costimulation, sinon le lymphocyte T ne s'activera pas. Par la suite, une fois activés, les LT vont proliférer et lorsqu'ils vont reconnaître leur cible (agent pathogène, cellule cancéreuse etc...) ils vont l'attaquer en relarguant des cytokines pro-inflammatoires (ici, Interféron  $\gamma$  et TNF- $\alpha$ ) ainsi que des molécules cytolytiques (granzyme (A) et B et perforine).

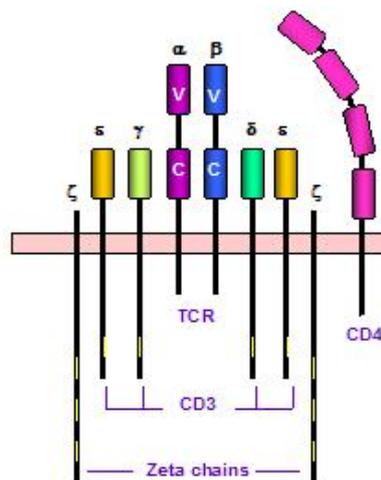


Figure 30 Représentation du complexe TCR-CD3 et son corécepteur CD4(91)

Comme nous l'avons évoqué précédemment, l'activation passe par le TCR représenté par la figure 30. Il est composé de différentes chaînes protéiques qui sont dans la membrane. C'est notamment au niveau du domaine CD3 $\zeta$  (zêta) qu'il va y avoir activation du LT, lorsque les chaînes sont phosphorylées (transduction du signal induisant la synthèse des molécules pro-inflammatoires et cytolytiques).

La différence entre l'activation classique des lymphocytes et l'activation du lymphocyte T-CAR est que ce dernier n'a pas besoin qu'une cellule lui présente l'antigène à reconnaître. C'est ce qui est représenté par la figure 31.

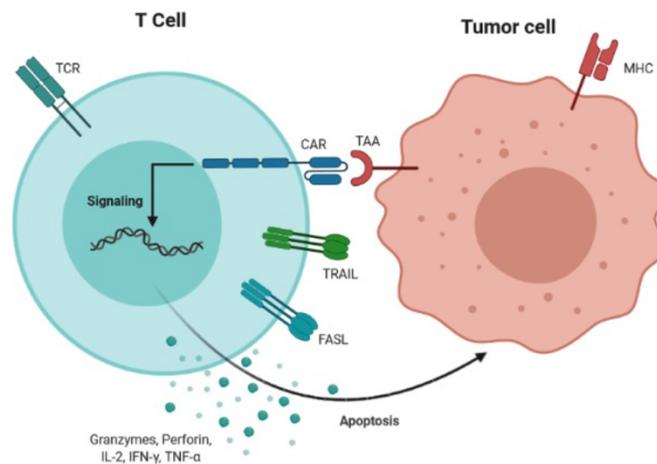


Figure 31 Liaison d'une cellule T possédant un récepteur chimérique à l'antigène avec une cellule cancéreuse

En général, pour faire une cellule CAR-T ciblant spécifiquement un antigène, on utilise l'anticorps ciblant cet antigène. La partie codant pour le scFV de l'anticorps est sélectionnée puis transduite dans le lymphocyte T. Une fois que le CAR est intégré au lymphocyte, l'antigène va être reconnu par la partie scFV du CAR, ce qui va activer le lymphocyte et induire la sécrétion de perforine, granzyme et IL-2, INF et TNF.

### II.4.1.1.3. Processus de production des CAR-T

Le processus de production des thérapies CAR-T est un processus complexe et minutieux, impliquant plusieurs étapes critiques dans le but de créer un traitement personnalisé et hautement efficace.

#### II.4.1.1.3.1. Immunothérapie autologue ou allogénique ?

La production des immunothérapies cellulaires, telles que les CAR-T, peut être réalisée selon deux approches principales. Soit une immunothérapie autologue soit une immunothérapie allogénique.

Dans le cas des immunothérapies autologues, les cellules du patient lui-même sont utilisées. Cependant, cette approche présente plusieurs défis significatifs. Premièrement, les patients sont souvent sous traitement chimiothérapique, ce qui compromet leur système immunitaire. Il est donc nécessaire d'attendre une reconstitution suffisante des lymphocytes T avant de pouvoir les prélever. De plus, dans le cas de certaines pathologies comme les leucémies, une sélection minutieuse des lymphocytes T sains est cruciale pour éviter la contamination par des cellules malignes.

Ce processus autologue est intrinsèquement complexe et chronophage. Il requiert que le patient soit dans un état de santé suffisant pour produire des LT viables. La durée totale du processus, incluant le prélèvement, la sélection et l'amplification des cellules, peut excéder un mois, ce qui peut être problématique dans le contexte de maladies à progression rapide.

L'approche allogénique, en revanche, offre certains avantages logistiques. Elle implique l'utilisation de LT provenant d'un donneur sain. Ces cellules sont modifiées génétiquement et amplifiées avant d'être administrées au patient. Bien que cette méthode simplifie la production, elle soulève des questions importantes de compatibilité immunologique.

Pour atténuer les risques d'incompatibilité, diverses stratégies sont explorées. Outre l'insertion du CAR, une modification génétique supplémentaire peut être effectuée pour supprimer l'expression du TCR. Cette approche vise à prévenir la reconnaissance des antigènes du soi du receveur par les cellules T modifiées.

Néanmoins, un défi majeur persiste : le système immunitaire du receveur peut potentiellement reconnaître et éliminer les cellules CAR-T allogéniques, compromettant ainsi l'efficacité du traitement. La résolution de cette problématique reste un axe de recherche important dans le développement des immunothérapies cellulaires allogéniques

#### **II.4.1.1.3.2. L'effecteur**

Les lymphocytes T  $\alpha\beta$  sont les plus couramment utilisés sur le marché. Ils représentent la majorité des lymphocytes T présents dans le sang et sont relativement faciles à amplifier. Cependant, un des principaux inconvénients associés à l'utilisation des lymphocytes T  $\alpha\beta$  est leur potentiel d'alloréactivité, ce qui peut poser des problèmes dans le cadre de thérapies allogéniques. En revanche, un des aspects positifs des lymphocytes T  $\alpha\beta$  est leur capacité à persister dans l'organisme et à induire une mémoire immunitaire. Cette mémoire est cruciale pour prévenir les rechutes de la maladie, ce qui en fait un facteur important dans le succès des traitements. Néanmoins, si ces lymphocytes sont trop sollicités, ils peuvent s'épuiser, ce qui compromet leur efficacité à long terme. De plus, une suractivation des lymphocytes T  $\alpha\beta$  peut entraîner un syndrome de relargage des cytokines, également connu sous le nom d'orage cytokinique, qui peut avoir des conséquences graves pour le patient.

Depuis quelques années, l'intérêt pour les lymphocytes T  $\gamma\delta$  a également augmenté. Bien que ces cellules soient présentes en très faible quantité dans le sang (représentant environ 5 % des lymphocytes), il est possible de les amplifier efficacement en laboratoire. Cependant, un défi majeur réside dans la détermination de l'âge des cellules récupérées. Si ces cellules sont trop âgées, leur amplification pourrait conduire à une prolifération de cellules qui ne survivent pas longtemps, rendant cette approche moins efficace.

Les lymphocytes T  $\gamma\delta$  présentent l'avantage d'agir à la croisée de l'immunité innée et acquise. Contrairement aux lymphocytes T  $\alpha\beta$ , ils ne reconnaissent pas les molécules du CMH, ce qui réduit considérablement le risque de maladie du greffon contre l'hôte (GvHD)(92). Cela permet également d'envisager la création de banques de cellules provenant de différents donneurs.

En ce qui concerne les cellules Natural Killer (NK), elles sont présentes en grande quantité dans le sang et ne provoquent généralement pas d'alloréactivité. Cela les rend attrayantes pour une utilisation en immunothérapie. Cependant, un inconvénient majeur des cellules NK semble être leur manque de persistance dans l'organisme après administration, ce qui pourrait limiter leur efficacité thérapeutique à long terme.

En résumé, chaque type cellulaire présente des avantages et des inconvénients spécifiques qui influencent leur utilisation dans l'immunothérapie. Le choix du type cellulaire approprié dépendra donc de divers facteurs, notamment la pathologie ciblée et les caractéristiques individuelles du patient. La recherche continue d'explorer ces différentes options afin d'optimiser l'efficacité et la sécurité des traitements en immunothérapie cellulaire.

#### **II.4.1.1.3.3. La transduction**

Le processus de transduction, étape cruciale dans la production des cellules CAR-T, nécessite une considération attentive du type de vecteur utilisé. La méthode prédominante repose sur l'utilisation de vecteurs viraux, exploitant la capacité naturelle de certains virus à infecter des cellules et à intégrer leur matériel génétique dans le génome cellulaire.

Parmi les vecteurs viraux, les rétrovirus sont actuellement les plus couramment employés. Ces virus à ARN sont équipés d'une enzyme rétrotranscriptase, qui permet la conversion de l'ARN viral en ADN et son intégration subséquente dans le génome de la cellule hôte. Cette caractéristique confère aux rétrovirus la capacité d'assurer une expression permanente du transgène, d'où leur classification en tant que virus intégratifs. Les lentivirus, une sous-catégorie de rétrovirus, sont particulièrement appréciés pour leur capacité à transduire efficacement des cellules non prolifératives.

Outre les rétrovirus, d'autres vecteurs viraux sont également utilisés ou en cours d'investigation tel que les vecteurs adénoviraux ou les vecteurs AAV.

Parallèlement aux approches virales, des stratégies non virales sont en cours de développement et d'optimisation. Parmi ces méthodes physiques, on peut citer l'électroporation ou la nucléofection qui est une forme spécialisée d'électroporation qui cible directement le noyau cellulaire pour améliorer l'efficacité de la transduction. De plus, l'utilisation de sels peut également altérer la perméabilité membranaire pour favoriser l'introduction du matériel génétique.

Les méthodes chimiques incluent l'emploi de nanoparticules, telles que les liposomes ou les polymères cationiques, qui encapsulent et protègent le matériel génétique tout en facilitant son entrée dans la cellule. Les systèmes basés sur des peptides pénétrants représentent une autre approche chimique prometteuse.

Enfin, certaines méthodes biologiques utilisent des transposons, comme le système Sleeping Beauty, qui permettent une intégration stable du transgène sans recourir à des vecteurs viraux(93).

Chacune de ces approches présente des avantages et des inconvénients spécifiques en termes d'efficacité de transduction, de sécurité et de capacité de chargement génétique. Le choix de la méthode de transduction dépend donc de plusieurs facteurs, notamment du type cellulaire ciblé et des objectifs thérapeutiques visés.

#### **II.4.1.1.3.4. La cible**

La sélection de la cible antigénique est une étape cruciale dans le développement des thérapies CAR-T, car elle influence directement l'efficacité du traitement et son profil de toxicité. Dans un scénario idéal, la cible antigénique serait exprimée de manière uniforme sur l'ensemble des cellules tumorales et serait totalement absente des tissus sains. Cependant, cette situation parfaite est rarement, voire jamais, rencontrée dans la réalité clinique. En pratique, le choix de la cible résulte d'un compromis entre spécificité tumorale et expression sur les tissus normaux. Les chercheurs s'efforcent d'identifier des antigènes qui sont surexprimés ou exprimés de manière aberrante par les cellules cancéreuses, tout en étant faiblement exprimés ou absents des tissus sains vitaux. Ce processus de sélection implique une analyse approfondie de l'expression des antigènes dans divers types de tumeurs et de tissus normaux, ainsi qu'une évaluation des conséquences potentielles de la destruction des cellules exprimant l'antigène cible. Il existe actuellement un large éventail de cibles antigéniques en cours d'étude pour diverses indications oncologiques, chacune présentant ses propres avantages et limitations en termes d'efficacité et de sécurité. Le choix final de la cible dépend non seulement de son profil d'expression, mais aussi de facteurs tels que son rôle dans la biologie tumorale, sa stabilité d'expression au cours de la progression de la maladie, et la disponibilité d'anticorps ou de fragments d'anticorps capables de la reconnaître avec une haute affinité et spécificité.

#### **II.4.1.1.4. Les limites et l'avenir**

Les thérapies CAR-T représentent une avancée significative dans le traitement des cancers, en particulier des leucémies. Actuellement, deux CAR-T, développés par Novartis (Kymriah®) et Gilead (Yescarta®), ciblent l'antigène CD19 et sont utilisés dans les traitements autologues, ce qui entraîne des coûts élevés, variant entre 200 000 et 300 000 euros par dose. Bien que ces traitements soient coûteux, leur efficacité et leur profil d'effets indésirables sont souvent plus favorables que ceux des chimiothérapies traditionnelles.

Bien que les immunothérapies CAR-T soient principalement utilisées pour traiter des tumeurs liquides, elles peuvent également être envisagées pour des tumeurs solides. Toutefois, ces dernières présentent des défis supplémentaires représentés par la figure 32, notamment l'hétérogénéité tumorale et l'échappement antigénique. En effet, toutes les cellules tumorales n'expriment pas l'antigène cible de manière homogène et certaines peuvent même cesser de l'exprimer au fil du temps. De plus, les tumeurs solides sont souvent mal vascularisées, ce qui complique l'accès des lymphocytes T aux cellules tumorales.

Pour surmonter ces obstacles, plusieurs stratégies sont explorées. Par exemple, certaines générations de CAR-T intègrent deux récepteurs différents pour cibler plusieurs antigènes simultanément(94). D'autres approches incluent la modification épigénétique des cellules tumorales pour augmenter l'expression des antigènes(95) ou la normalisation du réseau vasculaire tumoral par radiothérapie(96) afin d'améliorer l'accessibilité aux lymphocytes T.

Le microenvironnement tumoral représente également un défi majeur pour l'efficacité des thérapies CAR-T. Ce microenvironnement est souvent caractérisé par une hypoxie et un pH acide qui inhibent la réponse immunitaire. Les cellules tumorales peuvent également induire la différenciation de macrophages en macrophages associés aux tumeurs (TAM) et favoriser la présence de lymphocytes T régulateurs (Treg), ce qui complique davantage la situation.

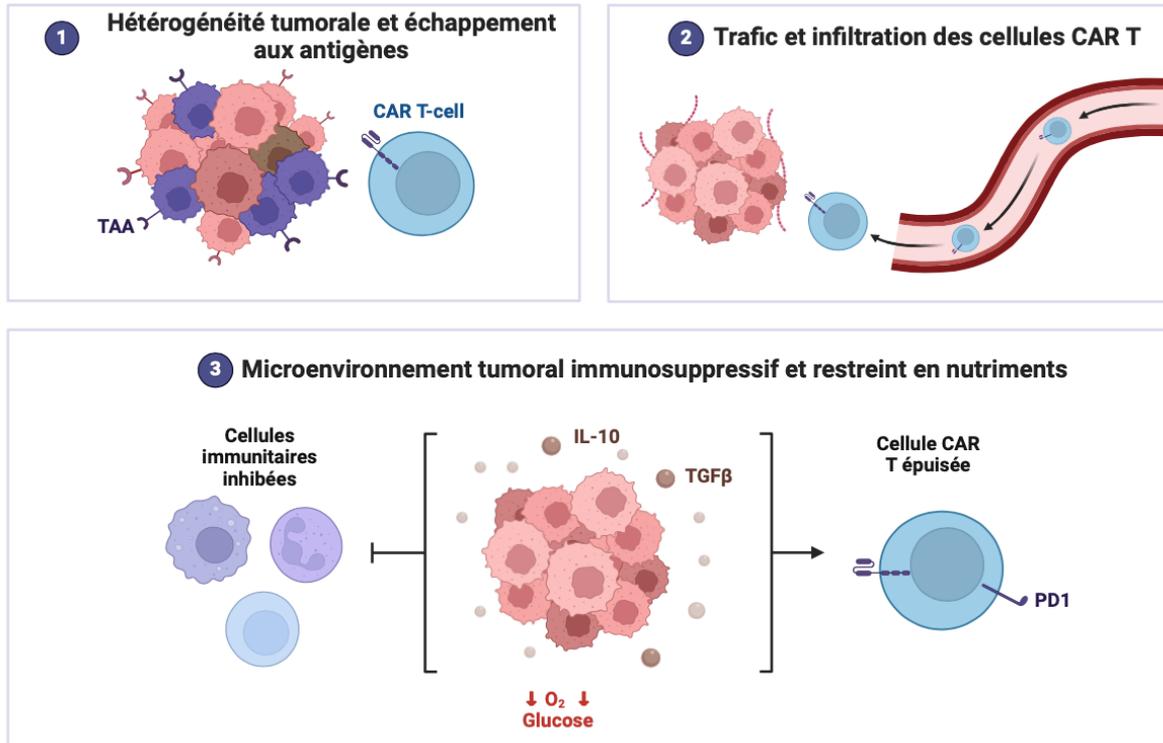


Figure 32 Les limites de l'immunothérapie par CAR-T contre les tumeurs solides(97)

Enfin, il est important de noter que les CAR-T ne se limitent pas aux lymphocytes T ; d'autres types cellulaires peuvent également être modifiés pour exprimer un CAR. Bien que le coût des thérapies CAR-T soit élevé et qu'il existe un risque d'effets indésirables graves comme le syndrome de relargage cytokinique, ces traitements offrent une alternative prometteuse avec un potentiel d'efficacité supérieur à celui des chimiothérapies traditionnelles.

Des recherches sont en cours sur les CAR-T allogéniques, qui utilisent des lymphocytes T  $\alpha\beta$  modifiés pour créer des CAR-T universels. Ces CAR-T universels ciblent également CD19, mais présentent l'avantage de ne pas nécessiter le tri préalable des lymphocytes T du patient. Au lieu de cela, les cellules T sont prélevées auprès de plusieurs donneurs et modifiées pour exprimer le CAR tout en éteignant l'expression du TCR, ce qui réduit le risque de maladie du greffon contre l'hôte. Actuellement, des essais cliniques de phase I sont en cours pour traiter la leucémie aiguë lymphoblastique réfractaire(98).

Pour conclure cette partie sur les thérapies cellulaires et géniques, il est évident que ces approches innovantes représentent une avancée majeure dans le domaine de la médecine moderne. La convergence de ces deux domaines, illustrée notamment par la thérapie CAR-T, ouvre de nouvelles perspectives pour le traitement de maladies jusqu'alors considérées comme incurables. Les progrès constants dans la compréhension des mécanismes cellulaires et génétiques, couplés aux avancées technologiques en matière d'édition génomique et de vectorisation, laissent entrevoir un avenir prometteur pour ces thérapies. Bien que des défis persistent, notamment en termes de sécurité et d'accessibilité, les thérapies cellulaires et géniques ont le potentiel de révolutionner notre approche du traitement des maladies génétiques, des cancers et d'autres pathologies complexes, ouvrant ainsi la voie à une médecine plus personnalisée et potentiellement plus efficace.

### **III. Les médicaments issus des biotechnologies : état des lieux en France**

---

Dans l'arène dynamique de la santé, les médicaments issus des biotechnologies se positionnent au cœur de l'innovation médicale. En France, ce secteur connaît une expansion significative, tant sur le plan de la recherche que sur celui de la mise en œuvre clinique. Nous allons donc nous pencher sur l'état actuel des médicaments biotechnologiques dans l'hexagone, explorant les contours du marché, les autorisations de mise sur le marché (AMM), et les politiques publiques qui encadrent cette révolution thérapeutique.

#### **III.1. Le marché des médicaments issus des biotechnologies en France**

Le marché français des médicaments biotechnologiques se déploie comme un terrain fertile d'innovation et de progrès médical. En constante expansion, il représente bien plus qu'une simple composante du secteur pharmaceutique ; il incarne la promesse de traitements personnalisés, de thérapies novatrices, et de réponses ciblées aux défis médicaux les plus pressants. À l'aube de cette exploration, plongeons dans les eaux profondes de ce marché dynamique. Des protéines recombinantes aux thérapies géniques, chaque segment joue un rôle essentiel dans le panorama global, redéfinissant la manière dont nous abordons la guérison et la gestion des maladies.

France Biotech(99), une association indépendante fédérant les entrepreneurs de l'innovation dans la santé et leurs partenaires experts fondée en 1997, publie régulièrement depuis 2002 une étude nommée « Panorama France HealthTech ». Cette étude annuelle de grande envergure dresse un bilan exhaustif du secteur de la HealthTech en France. Cet examen approfondi offre de multiples indicateurs pour analyser la croissance du domaine tout en anticipant les évolutions futures au sein de l'industrie. L'édition 2023, qui couvre l'année 2022, marque les 20 ans de l'étude et compare la situation actuelle à celle de 2002. Cette édition élaborée en partenariat avec des acteurs économiques et des pôles de compétitivité en santé, a permis de réunir 454 entreprises HealthTech qui ont répondu à une série de questions spécifiquement conçues par France Biotech. Le secteur HealthTech représente l'ensemble des technologies créées dans le domaine de la santé au sens large. Il est composé des Biotech, des MedTech qui regroupe les technologies utilisées pour soigner, sauver ou améliorer la vie des patients et de la santé numérique et intelligence artificielle. Les données fournies par ce panel d'entreprise permettent de brosser un fidèle portrait de l'écosystème HealthTech en France. Le tableau 1, tiré de ce rapport, présente l'évolution de certains indicateurs de la maturité des entreprises de biotechnologie françaises.

Tableau 1 Indicateurs sur la maturité des entreprises de biotechnologie française

	2002	Évolution	2022
Nombre de sociétés de biotechnologie	130	x6	800
Nombre de produits en développement	170	x13	2300
Nombre de produits en développement par entreprise	1,3	x2,3	3
Pourcentage en phase de recherche et préclinique	60%	Idem	60%
Montants levés en capital-risque par les biotech et les MedTech (en millions d'€)	212	x4,7	1000

On constate une multiplication par six du nombre d'entreprises biotechnologiques au cours des 20 dernières années. En 2013, le Leem (100) avait déjà recensé 457 entreprises du secteur, témoignant d'une croissance constante. Une augmentation significative du nombre de produits en développement et des fonds levés indique une vitalité économique soutenue. En février 2024 c'est 820 entreprises de biotechnologie qui sont dénombrées (101) soit 20 sociétés supplémentaires créées en un an.

Avec une moyenne de trois produits en développement par entreprise, cela reflète un portefeuille de produits en expansion, signe d'un marché gagnant en maturité. De plus, un quart des sociétés de biotechnologie possèdent une filiale à l'étranger renforçant également cette idée. Il est également noté que 73 % des entreprises de biotechnologie ont procédé à des recrutements en 2022, et 80 % envisageaient d'embaucher de nouveaux collaborateurs en 2023. Cela renforce l'idée d'une dynamique positive, bien que le recrutement demeure l'un des défis majeurs auxquels sont confrontés les dirigeants du secteur HealthTech. À la suite de la publication du rapport 2023, ce sont 71% des entreprises biotech qui ont réalisé des recrutements avec une moyenne de 6 salariés supplémentaires par entreprises ce qui confirme cette dynamique. Pour rappel il s'agit d'un panel d'entreprise qui est interrogé, différent d'une année à l'autre. On reste donc très proche des chiffres prévisionnels de l'année 2022.

Les molécules qualifiées de « Biologics », telles que les anticorps (22 %), les thérapies géniques (10 %) ou cellulaires (6 %), sont majoritaires parmi les produits en développement, bien que les petites molécules représentent la plus grande part (29 %). Les petites molécules, les thérapies géniques et les anticorps sont les trois types de produits les plus fréquents en phases cliniques 2b et 3. En l'espace d'un an, la part des médicaments bénéficiant du statut de médicament orphelin a augmenté de 16 % à 22 %, témoignant une fois de plus de la maturation croissante du secteur qui s'engage dans un marché présentant peu de bénéfices, mais une nécessité de santé publique réelle. Bien que le marché soit en expansion, il demeure sujet à des préoccupations. En effet, les entreprises de biotechnologie sont 10 % de plus à exprimer leur préoccupation quant aux défis liés aux levées de fonds par rapport à l'année précédente.

Pour répondre à ces enjeux, les politiques publiques jouent un rôle central. Dans cette optique, le Plan France 2030 se profile comme un catalyseur essentiel, promettant de guider l'avenir de l'industrie des médicaments issus des biotechnologies. Plongeons dans l'examen des politiques qui encadrent ce domaine, avec un regard particulier sur la vision à long terme définie par le Plan France 2030.

## **III.2. Les politiques publiques relatives aux médicaments issus des biotechnologies en France**

Plusieurs programmes d'envergure ont été initiés pour répondre aux défis posés par la crise de la Covid-19 et pour promouvoir la transition économique et écologique en France. Tout d'abord, les dernières phases des programmes liés au Programme d'Investissements d'Avenir (PIA3) ont été complétées, comprenant notamment l'Appel à Manifestation d'Intérêt (AMI) « capacity building » et le plan de relance avec le programme « territoire d'industrie ». Ces initiatives ont alloué 900 millions d'euros<sup>(102)</sup> pour financer des projets de recherche et développement liés à la Covid-19 et pour renforcer les capacités de production de vaccins et d'autres produits essentiels.

### **III.2.1. France 2030**

Parallèlement, le déploiement du plan France 2030<sup>(103)</sup>, doté de 54 milliards d'euros sur 5 ans, a été amorcé ; sous la tutelle du Secrétariat général pour l'investissement, agissant pour le compte du Premier ministre. Il implique la collaboration d'opérateurs de l'État tels que l'Agence de la transition écologique (ADEME), l'Agence nationale de la recherche (ANR), la Caisse des Dépôts et Bpifrance, qui joue un rôle principal en tant qu'opérateur. Ce programme vise à orienter l'économie vers une trajectoire plus durable, à encourager l'innovation et à répondre aux défis environnementaux. Ses objectifs principaux sont :

- La décarbonation de l'économie : Une part importante des dépenses du programme est allouée à des initiatives visant à réduire l'empreinte carbone de l'économie, favorisant ainsi une transition vers des secteurs plus respectueux de l'environnement.
- L'innovation : Le programme vise également à soutenir l'innovation dans divers secteurs économiques, en encourageant le développement de nouvelles technologies, de nouveaux produits et de nouveaux services.
- La promotion d'acteurs émergents : Une attention particulière est portée aux acteurs émergents et porteurs d'innovation, dans le but de stimuler la croissance de ces entreprises et de favoriser l'émergence de nouvelles solutions économiques et environnementales.

France 2030 est structuré autour de 10 objectifs et 5 leviers, intégrés dans l'architecture plus large du Plan d'Investissement d'Avenir 4 (PIA4). Il comprend un volet dirigé, qui comprend des stratégies d'accélération dans divers secteurs économiques, ainsi qu'un volet structurel axé sur les acteurs de l'enseignement, de la recherche et de l'innovation.

Dans le secteur de la santé, le programme France 2030 s'articule autour de plusieurs axes, tels que les maladies infectieuses émergentes, la biothérapie et la bioproduction, ainsi que la santé numérique. Des financements et des appels à projets spécifiques sont lancés pour soutenir l'innovation dans ces domaines. Dans le cadre du Plan France 2030, le conseil national de l'industrie, la direction générale des entreprises, Bpifrance et les partenaires de la filière ont lancé le premier accélérateur Industries et Technologies de Santé. Ce programme a pour objectif d'accompagner les entreprises via du conseil, des formations, de la mise en réseau et un accompagnement personnalisé.(104)

Le plan France 2030 a aussi permis la création de l'Agence de l'Innovation en Santé (105) qui a pour mission de promouvoir et soutenir l'innovation dans le domaine de la santé. Son objectif est de stimuler la recherche, le développement et la mise en œuvre de solutions novatrices pour améliorer la santé publique en France. Elle est chargée de plusieurs missions, telle que le suivi des financements de la recherche biomédicale, anticiper les besoins futurs du système de santé, accompagner les projets innovants stratégiques pour la France, accélérer la mise à disposition des innovations pour les patients et les professionnels de santé, et intégrer l'innovation dans une politique de prévention ambitieuse.

Lise Alter, directrice générale de l'Agence de l'innovation en santé, soulignait dans le Panorama France HealthTech 2023(101), les résultats du plan France 2030 : « Concernant le champ des biothérapies par exemple, la France est remontée en deux ans de la 3e à la 2e position en Europe, derrière le Royaume-Uni et devant l'Allemagne et la Suisse. On peut voir dans ce résultat l'effet de la Stratégie d'accélération Biothérapies-Bioproduction dont l'ambition est de positionner la France comme leader européen. »

Un aspect crucial de tous ces programmes est le soutien aux entreprises, avec des aides incitatives et des niveaux de subvention plus élevés qu'auparavant, visant à partager le risque. De plus, des dispositifs spécifiques ont été mis en place pour accompagner l'industrialisation des innovations portées par les startups et PME, avec des fonds disponibles et des appels à projets ciblés.

Dans le domaine de la santé, un accent particulier a été mis sur le soutien aux entreprises à travers des accélérateurs et des dispositifs d'accompagnement, notamment pour les dispositifs médicaux et les solutions de santé numérique. La création de la FrenchCare en 2021 vise à rassembler et animer la communauté des acteurs du système de santé français pour promouvoir l'excellence en santé dans le pays.

### **III.2.2. Le Crédit d'Impôt Recherche (CIR)**

Le Crédit d'Impôt Recherche (CIR) est un dispositif fiscal mis en place par l'État français en 1983 pour encourager la recherche et le développement (R&D) des entreprises. Il permet aux entreprises de bénéficier d'un crédit d'impôt calculé sur leurs dépenses de recherche éligibles. Ces dépenses peuvent inclure les salaires des chercheurs, les dépenses de fonctionnement des laboratoires, l'acquisition de brevets, les coûts de sous-traitance de la R&D, etc. Le CIR vise à stimuler l'innovation en offrant aux entreprises un moyen de réduire leur charge fiscale tout en investissant dans la recherche et le développement. Il est ouvert à toutes les entreprises, qu'elles soient grandes, moyennes ou petites, et dans tous les secteurs d'activité. Selon le Panorama France HealthTech 2023, la quasi-totalité des entreprises HealthTech utilise ce dispositif avec 86% des entreprises sondées ayant répondu par l'affirmative.

### **III.2.3. Le Crédit d'Impôt Collaboration de Recherche (CICo)**

Plus jeune, le CICo a été créé en 2022. Il permet aux entreprises qui réalisent des dépenses de recherche en collaboration avec des partenaires de bénéficier d'un crédit d'impôt sur ces dépenses. Ce crédit d'impôt est calculé sur les sommes versées aux partenaires de recherche dans le cadre de projets collaboratifs de R&D. Ce dispositif vise à favoriser les partenariats entre les entreprises et les organismes de recherche, ce qui peut stimuler l'innovation en permettant aux entreprises d'accéder à l'expertise et aux ressources des laboratoires de recherche. En encourageant ces collaborations, le CICo contribue à renforcer le transfert de connaissances entre le secteur de la recherche et celui de l'industrie, favorisant ainsi le développement de produits et de technologies innovants. Ce dispositif n'est encore qu'à ses prémices. Parmi les entreprises HealthTech sondées dans le Panorama France HealthTech 2023, ce n'est que 39 % des entreprises qui avaient seulement connaissance de ce dispositif et uniquement 7% de celle-ci l'ont utilisé en 2022/2023.

### **III.2.4. Le statut de Jeune Entreprise de Croissance (JEC) et Jeune Entreprise Innovante (JEI)**

Ces deux dispositifs sont destinés à soutenir les jeunes entreprises engagées dans des activités de recherche et de développement. Pour bénéficier du statut, une entreprise doit répondre à certains critères, être une PME ayant moins de 8 ans d'existence. La différence se fait au niveau de la part des dépenses annuelles consacrées à la recherche et au développement. Pour les JEI, il faut au moins 15 % de ses dépenses annuelles tandis que pour la JEC c'est entre 5 et 15%. Les entreprises bénéficiant de ces statuts peuvent bénéficier d'exonérations fiscales.

Si le statut de JEI a été créé en 2004, le statut de JEC lui est arrivé à la suite de la loi de finances pour 2024. Le nouveau statut de JEC semble être davantage axé sur la croissance de l'entreprise, en reconnaissant et en soutenant les jeunes entreprises en forte croissance, qui réalisent des dépenses de recherche et qui ont un potentiel de développement important.

Cependant comme le soulève le Panorama France HealthTech 2023, en prenant en compte la croissance de l'âge moyen des sociétés et des cycles de développement très longs de la filière, particulièrement chez les sociétés de biotechnologie, une part croissante des entreprises ne peut et ne pourra plus bénéficier de ces avantages, pourtant précieux.

### III.3. Les autorisations de mise sur le marché (AMM) des médicaments issus des biotechnologies en France

L'obtention de l'Autorisation de Mise sur le Marché (AMM) est une étape cruciale dans le processus de développement et de commercialisation des médicaments issus des biotechnologies en France, garantissant leur qualité, leur sécurité et leur efficacité pour les patients.

Pour rappel, le parcours du médicament est schématisé sur la figure 33 issue du Leem(106)

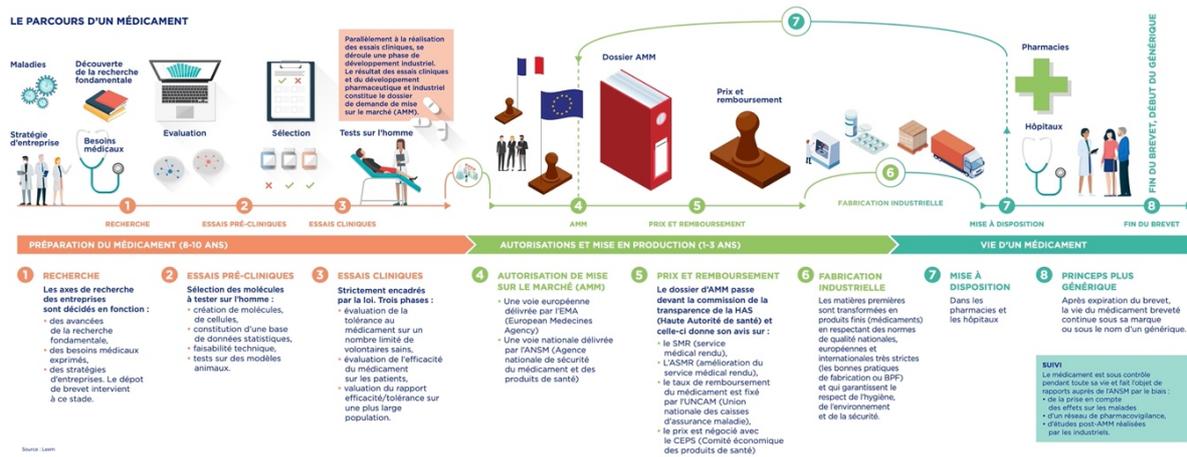


Figure 33 Le parcours du médicament

#### III.3.1. Qu'est-ce que l'AMM ?

L'Autorisation de Mise sur le Marché (AMM) est une approbation réglementaire délivrée par les autorités compétentes d'un pays ou d'une région qui permet à un médicament d'être commercialisé et distribué pour être utilisé chez les patients. En France nous sommes principalement concernés par deux agences, l'Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des produits de santé (ANSM) et l'Agence Européenne des Médicaments (EMA). L'ANSM est l'agence nationale française chargée de la réglementation et de la surveillance des médicaments et des produits de santé en France. Son rôle est de veiller à la sécurité, à la qualité et à l'efficacité des médicaments et des produits de santé commercialisés sur le territoire français.

Par rapport à l'EMA, qui est l'agence réglementaire européenne responsable de l'évaluation et de la supervision des médicaments dans l'Union Européenne, l'ANSM joue un rôle plus spécifique et localisé. Lorsque l'EMA émet des décisions ou des recommandations concernant un médicament au niveau européen, l'ANSM est chargée de les mettre en œuvre en France. Cela peut inclure des décisions concernant l'autorisation de mise sur le marché, la surveillance post-commercialisation, ou des mesures de sécurité spécifiques. L'ANSM travaille en étroite collaboration avec l'EMA et d'autres agences nationales similaires dans l'UE pour partager des informations, des données et des expériences concernant la sécurité et l'efficacité des médicaments. Cette collaboration permet d'harmoniser les réglementations et les pratiques de surveillance à travers l'Europe.

Bien que l'EMA supervise les médicaments à l'échelle européenne, l'ANSM est responsable de la surveillance spécifique des médicaments sur le territoire français. Cela inclut la détection des effets indésirables, la gestion des risques, et la prise de mesures spécifiques pour assurer la sécurité des patients français. L'ANSM fournit une expertise nationale lors des évaluations des médicaments au niveau européen. Ses experts participent aux comités de l'EMA et contribuent aux décisions prises au niveau de l'UE en apportant leur connaissance et leur expérience spécifiques.

La délivrance d'une AMM repose sur une évaluation de l'équilibre entre les avantages et les risques du médicament, en considérant plusieurs aspects tels que son efficacité pour les maladies ciblées, son profil de sécurité, et sa qualité.

Dans l'Union européenne, il existe quatre procédures pour obtenir une AMM : la procédure centralisée, la procédure décentralisée, la procédure de reconnaissance mutuelle, et la procédure nationale.

- La procédure centralisée concerne les médicaments destinés à tous les États membres, avec une AMM délivrée par la Commission européenne. Elle est obligatoire pour certains types de médicaments, comme les médicaments issus de biotechnologie, les médicaments de thérapie innovante que nous allons définir ou les médicaments orphelins.
- La procédure décentralisée s'applique aux médicaments non autorisés dans l'UE mais destinés à au moins deux États membres, avec un État membre agissant comme référent. Si l'AMM est octroyée dans l'état référent, alors elle est réputée valable dans les autres États concernés par cette demande.
- La procédure de reconnaissance mutuelle concerne les médicaments ayant déjà obtenu une AMM dans un État membre de l'UE selon une procédure nationale. Si le laboratoire souhaite étendre cette AMM à d'autres pays, l'État ayant octroyé l'AMM pilote la procédure pour l'étendre aux autres pays membres.
- La procédure nationale concerne les médicaments destinés à un seul État membre, avec une évaluation et une AMM délivrée par l'autorité compétente de cet État.

Pour obtenir une AMM, un laboratoire pharmaceutique doit soumettre un dossier comprenant des données provenant d'essais précliniques et cliniques, ainsi que des informations sur la qualité du produit fini et les procédés de fabrication. Les médicaments génériques doivent également inclure des études de bioéquivalence avec le médicament d'origine.

Le format et le contenu du dossier d'AMM sont standardisés, qu'il soit soumis au niveau national, européen ou international. Ce format est le format eCTD, ou "electronic Common Technical Document" (dossier technique commun électronique). Il a été développé par l'International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use (ICH) pour faciliter l'échange de données entre les régulateurs et l'industrie pharmaceutique.

Le eCTD permet de présenter les informations requises pour l'autorisation de mise sur le marché (AMM) d'un médicament de manière organisée et cohérente. Il inclut des sections telles que la qualité pharmaceutique, la sécurité et l'efficacité du produit, les études cliniques, les données non cliniques, les informations sur les fabricants, etc.

Ce format électronique simplifie le processus de soumission en permettant aux autorités réglementaires d'accéder facilement aux données, de les examiner de manière cohérente et de les stocker de manière sécurisée. De plus, il facilite la collaboration entre les différentes agences réglementaires internationales, ce qui contribue à accélérer le processus d'évaluation et d'approbation des médicaments.

### **III.3.1.1. Le contenu du dossier de demande d'AMM**

Les données fournies par les fabricants de médicaments lorsqu'ils demandent l'autorisation de les mettre sur le marché doivent respecter les lois de l'Union européenne. Elles doivent contenir diverses informations, telles que la méthode de fabrication du médicament, les résultats des tests en laboratoire, les effets bénéfiques et secondaires observés chez les patients, ainsi que les mesures prévues pour gérer les risques, en plus des informations destinées aux patients et aux médecins.

Ces données doivent également inclure des détails sur le groupe de patients visé par le médicament, ainsi que sur tout besoin médical non satisfait qu'il vise à combler. Elles doivent également couvrir la qualité du médicament, ses propriétés chimiques et physiques, en respectant les normes internationales en matière de tests en laboratoire, de fabrication et d'essais cliniques. Le fonctionnement du médicament, sa distribution et son élimination dans le corps, ainsi que ses avantages et effets secondaires, doivent être décrits.

De plus, les plans de gestion des risques doivent être fournis, détaillant comment les risques seront gérés une fois le médicament autorisé, ainsi que les données à collecter dans les études de suivi. Ces plans sont évalués par le comité de sécurité de l'EMA pour garantir leur adéquation. Les informations destinées aux patients et aux professionnels de santé, telles que le résumé des caractéristiques du produit, l'étiquetage et la notice, doivent également être fournies et validées par le Comité des médicaments à usage humain (CHMP - Committee for Medicinal Products for Human Use) de l'EMA.

### **III.3.1.2. Les étapes du processus d'AMM**

Le processus d'obtention de l'AMM s'articule en plusieurs étapes :

- **Recherche et développement** : La première étape consiste en la recherche et le développement du médicament, où les molécules candidates sont identifiées, synthétisées et testées en laboratoire, puis évaluées dans des essais précliniques sur des animaux pour déterminer leur sécurité et leur efficacité potentielles.
- **Essais cliniques** : Les médicaments potentiels passent ensuite par des essais cliniques sur des humains, généralement divisés en trois phases. Les essais cliniques évaluent l'innocuité, l'efficacité et les effets secondaires du médicament chez des populations de plus en plus larges.
- **Soumission de la demande d'AMM** : Une fois les données des essais cliniques rassemblées, le fabricant soumet une demande d'AMM aux autorités réglementaires compétentes, qui inclut des données sur la qualité, la sécurité et l'efficacité du médicament, ainsi que des informations sur sa fabrication et son contrôle.

- **Évaluation par les autorités réglementaires** : Les autorités réglementaires examinent attentivement les données soumises dans la demande d'AMM pour s'assurer que le médicament est sûr, efficace et de qualité appropriée pour une utilisation chez les patients. Cela peut impliquer un examen approfondi des données cliniques et non cliniques, ainsi que des inspections des sites de fabrication.
- **Décision d'AMM** : Une fois l'évaluation terminée, les autorités réglementaires prennent une décision concernant l'octroi ou le refus de l'AMM. Si l'AMM est accordée, le médicament peut être mis sur le marché et distribué aux patients. Dans certains cas, des conditions ou des restrictions peuvent être imposées, telles que des études de suivi post-commercialisation.

### **III.3.1.3. L'importance de l'AMM**

L'AMM joue un rôle fondamental dans le système de santé, assurant la qualité, la sécurité et l'efficacité des médicaments avant leur commercialisation. Son importance se manifeste à travers plusieurs aspects clés :

- **Sécurité des patients** : L'AMM garantit que les médicaments mis sur le marché répondent à des normes strictes de sécurité et de qualité, et qu'ils ont été évalués pour s'assurer qu'ils apportent plus de bénéfices que de risques aux patients.
- **Efficacité** : L'évaluation rigoureuse effectuée dans le cadre du processus d'AMM aide à garantir que les médicaments sont efficaces pour traiter les conditions médicales pour lesquelles ils sont indiqués.
- **Confiance du public** : L'AMM renforce la confiance du public dans le système de santé en garantissant que les médicaments disponibles ont été rigoureusement évalués et approuvés par des autorités réglementaires indépendantes.

En résumé, l'Autorisation de Mise sur le Marché est une étape cruciale dans le développement et la commercialisation des médicaments, garantissant qu'ils sont sûrs, efficaces et de haute qualité avant d'être disponibles pour les patients.

### **III.3.2. Le cas des médicaments biologique et plus particulièrement des Médicaments de Thérapie Innovante**

L'article L.5111-1 du Code de la Santé Publique (107)(CSP) définit le médicament comme toute substance ou composition présentée comme possédant des propriétés curatives ou préventives à l'égard des maladies humaines ou animales. Par extension, un médicament comprend toute substance ou composition pouvant être utilisée chez l'Homme ou l'animal ou pouvant leur être administrée, en vue d'établir un diagnostic médical ou de restaurer, corriger ou modifier leurs fonctions physiologiques en exerçant une action pharmacologique, immunologique ou métabolique.

Pour ce qui est du médicament biologique, il est défini par le point 14 de l'Article L.5121-1 (108) comme tout médicament dont la substance active est produite à partir d'une source biologique ou en est extraite et dont la caractérisation et la détermination de la qualité nécessitent une combinaison d'essais physiques, chimiques et biologiques ainsi que la connaissance de son procédé de fabrication et de son contrôle. On retrouve donc, dans ces médicaments biologiques, les médicaments dérivés du sang, les médicaments immunologiques et une classe particulière que l'on appelle les médicaments de thérapie innovante, les MTI.

Le statut de MTI est créé en 2007 par le règlement (CE) n°1394/2007 du parlement européen et du conseil du 13 novembre 2007 concernant les médicaments de thérapie innovante(109).

Les MTI peuvent être classés en 4 groupes principaux : médicaments de thérapie génique, médicaments de thérapie cellulaire somatique, médicaments issus de l'ingénierie tissulaire et les MTI combinés qui reprend les 3 premières catégories auquel on ajoute un dispositif médical mais c'est bien la matière cellulaire qui a l'activité thérapeutique, et non le dispositif.

Pour détailler un peu plus ce que représentent ces différents groupes de MTI, on se reporte à l'article 2 du règlement précédemment cité qui définit le MTI comme étant l'un des médicaments à usage humain suivants :

- Un médicament de thérapie génique dont la définition est donnée dans l'annexe I, partie IV, de la directive 2001/83/CE(110), est un médicament biologique qui présente la caractéristique de contenir une substance active contenant ou étant un acide nucléique recombinant administré à des personnes en vue de réguler, réparer, remplacer, ajouter ou supprimer une séquence génétique. Son effet thérapeutique, prophylactique ou diagnostique dépend directement de la séquence d'acide nucléique recombinant qu'il contient ou au produit de l'expression génétique de cette séquence.
- Un médicament de thérapie cellulaire somatique, dont la définition est également donnée dans la directive citée précédemment, est ou contient des cellules ou tissus qui ont fait l'objet d'une manipulation substantielle. C'est à dire une manipulation qui modifie leurs caractéristiques biologiques, leurs fonctions physiologiques ou leurs propriétés structurelles. Cela peut aussi être des cellules ou tissus qui sont destinés à être utilisés pour des fonctions différentes entre le donneur et le receveur. Il est présenté comme possédant des propriétés permettant de traiter, prévenir ou de diagnostiquer une maladie à travers l'action métabolique, immunologique ou pharmacologique de ses cellules ou tissus.

Les médicaments de thérapie cellulaire somatique sont à distinguer des préparations de thérapie cellulaire (PTC) qui, eux, subissent des manipulations non substantielles. C'est à dire des manipulations telles que décrites dans l'annexe 1 du règlement (CE) n°1394/2007, soit découpage, broyage, façonnage, centrifugation, trempage dans des solutions antibiotiques ou antimicrobiennes, stérilisation, irradiation, séparation, concentration ou purification de cellules, filtration, lyophilisation, congélation, cryoconservation, vitrification. Ces PTC sont utilisés pour la ou les mêmes fonctions entre le donneur et le receveur. Les PTC sont du ressort de la Directive 2004/23/CE tissus et cellules pour « greffe » et ne sont pas pharmaceutiques.

- Un produit issu de l'ingénierie tissulaire qui est un produit constitué de cellules ou tissus qui sont issus de l'ingénierie cellulaire ou tissulaire. Ce produit est présenté comme possédant des propriétés lui permettant de régénérer, réparer ou remplacer un tissu humain. Il peut contenir des cellules ou des tissus d'origine humaine ou d'origine animale, ou les deux. Les cellules ou tissus peuvent être viables ou non viables. Il peut également contenir des substances supplémentaires, telles que des produits cellulaires, des biomolécules, des biomatériaux, des substances chimiques, des supports ou des matrices.

- Un médicament combiné de thérapie innovante est un MTI comme défini précédemment qui doit incorporer comme partie intégrante un ou plusieurs dispositifs médicaux au sens de l'article 1er, paragraphe 2, point a), de la directive 93/42/CEE(109),

- C'est à dire tout instrument, appareil, équipement, matière ou autre article utilisé seul ou en association destiné à être utilisé chez l'homme à des fins: de diagnostic, prévention, contrôle, traitement ou atténuation d'une maladie ou d'une blessure, d'étude ou de remplacement ou modification de l'anatomie ou d'un processus physiologique, de maîtrise de la conception. Et dont l'action principale voulue n'est pas obtenue par des moyens pharmacologiques, chimiques ou immunologiques ni par métabolisme, mais dont la fonction peut être assistée par de tels moyens.

Ou ce peut être un ou plusieurs dispositifs médicaux implantables actifs au sens de l'article 1er, paragraphe 2, point c), de la directive 90/385/CEE(111)

- C'est à dire tout dispositif médical dépendant pour son fonctionnement d'une source d'énergie électrique ou de toute autre source d'énergie que celle générée directement par le corps humain ou la pesanteur. Et qui est conçu pour être implanté en totalité ou en partie, par une intervention chirurgicale ou médicale, dans le corps humain ou, par une intervention médicale, dans un orifice naturel et qui est destiné à rester après l'intervention.

La partie cellulaire ou tissulaire de ce médicament combiné doit contenir des cellules ou des tissus viables ou si elle contient des cellules ou des tissus non viables alors elle doit être susceptible d'avoir sur le corps humain une action qui peut être considérée comme essentielle par rapport à celle des dispositifs précités.

Pour être mis sur le marché ces médicaments particuliers doivent passer par la procédure centralisée que l'on a évoquée précédemment. Dans cette procédure, l'industrie pharmaceutique agit comme interlocuteur principal des autorités de santé. Cette procédure suit un calendrier précis, selon le cas, qui est mis à disposition par l'EMA (112) et comprend plusieurs étapes(113,114):

- Soumission de la demande d'éligibilité : Pour déterminer si un produit peut être évalué dans le cadre de la procédure centralisée, les postulants doivent soumettre une demande d'éligibilité, accompagnée d'une justification, en utilisant un formulaire spécifique. Cette démarche doit être entreprise entre 18 et 7 mois avant la soumission de la demande d'autorisation de mise sur le marché.

- Notification de l'intention de soumettre une demande : Pour informer l'agence de la date prévue de soumission, les demandeurs doivent envoyer le formulaire de demande préalable à la soumission via le bureau de service de l'EMA, en suivant des instructions spécifiques. Cette notification doit être faite 7 mois avant la présentation de la demande d'autorisation de mise sur le marché.

Préalablement à la soumission il est offert aux postulants la possibilité d'obtenir des conseils procéduraux et réglementaires de l'Agence. Cela passe par des réunions qui doivent être planifiées entre 6 et 7 mois avant la présentation de la demande d'autorisation de mise sur le marché.

Les candidats doivent confirmer à nouveau la date de soumission initialement communiquée à l'EMA ou informer l'EMA de tout changement de plan. Cette étape doit être réalisée 2 à 3 mois avant la soumission de la demande d'autorisation de mise sur le marché.

- Nomination des rapporteurs : Le CHMP et le Comité d'évaluation des risques de pharmacovigilance (PRAC - Pharmacovigilance Risk Assessment Committee) désignent des (co)rapporteurs pour mener l'évaluation scientifique. Pour les médicaments de thérapie innovante, le comité des thérapie innovante CAT nomme également des (co)rapporteurs parmi ses membres pour diriger l'évaluation.
- Soumission de la demande : Les candidats doivent utiliser le format eCTD et soumettre leur demande via la passerelle de soumission électronique ou le client Web. L'EMA peut demander des informations supplémentaires si nécessaire.
- Validation de la demande : L'EMA effectue une validation technique pour s'assurer que tous les éléments réglementaires essentiels sont inclus dans la demande avant le début de l'évaluation scientifique. Si des informations supplémentaires sont nécessaires, l'EMA les demandera au demandeur dans un délai spécifié.
- Évaluation scientifique : Le CHMP évalue les demandes soumises par la procédure centralisée, avec l'avis du PRAC sur les aspects du plan de gestion des risques et du CAT pour les médicaments à thérapie innovantes. Ce processus d'évaluation peut prendre jusqu'à 210 jours.

Les comités sont composés de membres de l'UE, d'Islande, de Norvège et d'experts cooptés dans des domaines scientifiques spécifiques.

Cette évaluation se découpe comme cela :

1. Évaluation initiale et formulation de questions (jusqu'à 120 jours)

- a. Rédaction des évaluations :

Les équipes du rapporteur et du corapporteur du CHMP examinent les données fournies concernant le médicament et rédigent indépendamment leurs évaluations, identifiant les questions ou préoccupations à adresser par le demandeur. Pour les médicaments de thérapie innovantes, les rapporteurs sont désignés parmi les membres du CAT de l'EMA ; chacun travaillant avec un coordinateur du CHMP.

- b. Inspection (si nécessaire) :

Les rapporteurs peuvent recommander une inspection des sites de production du médicament ou des processus de pharmacovigilance. Si approuvée, cette inspection est menée par des inspecteurs des agences nationales de l'UE.

c. Évaluation du plan de gestion des risques :

Deux membres du PRAC de l'EMA sont nommés pour évaluer le plan de gestion des risques (PGR) proposé par l'entreprise. Ce plan décrit la manière dont les risques seront minimisés ou gérés et comment obtenir plus d'informations sur les risques du médicament après autorisation.

d. Préparation de la liste de questions :

Les rapporteurs partagent leurs évaluations et une liste de questions avec tous les membres du CHMP et du PRAC, ainsi que l'évaluation du PGR.

e. Commentaires écrits des pairs :

Les pairs examinateurs du CHMP donnent leurs commentaires sur les évaluations des rapporteurs, en s'assurant de la solidité de l'argumentation scientifique.

f. Réunion d'examen par les pairs :

Tous les commentaires sont discutés lors d'une réunion, intégrant les différents points de vue pour aboutir à un rapport d'évaluation consolidé.

g. Finalisation de la liste de questions :

Le CHMP adopte un rapport d'évaluation qui inclut une liste de questions pour le demandeur.

Première pause d'évaluation : Cette phase d'évaluation dure jusqu'à 120 jours. Une pause est alors effectuée pour permettre au demandeur de répondre aux questions et de mettre à jour le PGR. Le demandeur a généralement trois à six mois pour répondre à ces questions.

2. Évaluation approfondie et liste de questions en suspens (jusqu'au jour 180)

a. Reprise de l'évaluation :

Les rapporteurs réévaluent les réponses du demandeur et préparent des questions supplémentaires.

b. Commentaires supplémentaires :

Les membres du CHMP examinent à nouveau le rapport d'évaluation mis à jour.

c. Examen par les membres du PRAC :

Le rapport mis à jour est également examiné par les membres du PRAC, qui peuvent demander des études de sécurité post-autorisation.

d. Rapport d'évaluation actualisé et liste éventuelle des questions en suspens :

Le rapport d'évaluation actualisé est discuté et adopté lors d'une réunion plénière du CHMP au 180<sup>e</sup> jour de la période d'évaluation active. En général, ce rapport comprend une nouvelle liste de questions basée sur les réponses du demandeur et les commentaires des membres du CHMP et du PRAC.

Deuxième pause d'évaluation : Si une liste de questions en suspens est établie, une deuxième pause est effectuée pour permettre au demandeur de répondre.

Le demandeur a généralement un à deux mois pour répondre, avec possibilité d'une explication orale.

### 3. Consultations supplémentaires (jusqu'au jour 210)

#### a. Explication orale :

Une explication orale peut être demandée, où le demandeur adresse directement le CHMP pour clarifier les questions en suspens.

#### b. Consultations externes :

Le CHMP peut consulter des experts externes, des médecins et des patients pour des questions spécifiques, généralement liées à l'utilisation clinique du médicament.

### 4. Discussion finale et adoption de l'avis

#### a. Mise à jour finale :

Le rapport d'évaluation est mis à jour avec les réponses du demandeur et les consultations externes.

#### b. Finalisation des commentaires :

Le rapport mis à jour est examiné à nouveau par les membres des deux comités.

#### c. Adoption de l'avis :

Le CHMP adopte un avis sur la demande, recommandant l'octroi ou le refus d'autorisation de mise sur le marché ainsi que les conditions d'utilisation.

#### d. Enregistrement des opinions divergentes :

Les divergences d'opinions sont notées, le cas échéant, et publiées avec le rapport d'évaluation pour transparence.

### 5. Réexamen éventuel

#### a. Appel possible :

Le demandeur peut faire appel de l'avis du CHMP dans les 15 jours suivant sa réception.

#### b. Nomination de nouveaux rapporteurs :

Des rapporteurs différents peuvent être nommés pour le réexamen.

#### c. Examen des motifs d'appel :

Le réexamen porte uniquement sur les points soulevés dans l'appel initial, sans ajout de nouvelles preuves.

#### d. Finalisation de l'avis :

À la fin du réexamen, un avis final est adopté par le CHMP.

Une fois l'évaluation terminée, l'avis scientifique est ensuite transmis à la Commission européenne pour décision finale sur l'autorisation de mise sur le marché. L'EMA rend public un résumé de cet avis.

La Commission européenne est l'instance habilitée à autoriser tous les produits évalués de manière centralisée, se basant sur la recommandation de l'EMA. Elle a 67 jours à la suite de la réception de l'avis du comité pour émettre sa décision. Une fois accordée, l'autorisation est valide dans tous les États membres de l'UE ainsi que dans les pays de l'Espace économique européen. Les décisions de la Commission sont accessibles dans le registre communautaire des médicaments à usage humain, accompagnées d'un rapport d'évaluation public européen (EPAR) pour chaque médicament.

En cas de refus d'autorisation, l'EMA publie un EPAR de refus, contenant un document de questions et réponses ainsi qu'un rapport d'évaluation détaillé.

### **III.4. Les leviers d'accélération de mise sur le marché(115)**

Pour répondre aux besoins urgents en matière de santé publique et favoriser l'innovation thérapeutique, plusieurs mécanismes ont été mis en place pour accélérer la mise sur le marché des médicaments prometteurs, tout en maintenant des standards élevés de sécurité et d'efficacité.

#### **III.4.1. La procédure d'évaluation accéléré**

Nous l'avons évoqué précédemment, la période d'évaluation de la procédure centralisée peut durer jusqu'à 210 jours, cependant dans certains cas elle peut être réduite à 150 jours.

Les demandeurs souhaitant une évaluation accélérée doivent fournir une justification complète de leur demande, en particulier en expliquant pourquoi ils estiment que le médicament serait d'un intérêt majeur pour la santé publique, notamment en termes d'innovation thérapeutique. Il n'existe pas de définition universelle de ce qu'est un intérêt majeur pour la santé publique, et cela doit être expliqué par le demandeur pour chaque cas.

Cette justification doit mettre en avant les principaux bénéfices anticipés et argumenter en faveur de l'idée que le médicament propose de nouvelles approches thérapeutiques ou améliore celles déjà existantes, répondant ainsi de manière significative aux besoins non satisfaits en matière de santé publique.

#### **III.4.2. L'AMM conditionnelle(115)**

L'autorisation de mise sur le marché conditionnelle d'un médicament est une procédure européenne qui permet l'approbation précoce de la mise sur le marché d'un médicament qui présente des avantages à être disponible immédiatement comparé au risque de ne pas avoir de données aussi étayées qu'à l'accoutumé.

Bien entendu cela est supporté par une base de données cliniques, bien que moins étendues que celles normalement requises, qui permettent de justifier que le médicament répond aux normes européennes de qualité, sécurité et efficacité. Ces données seront à compléter à la suite de l'autorisation et dans un délai convenu avec le CHMP. La condition d'accès à cette procédure est que le médicament réponde à un besoin médical non satisfait, cible une maladie grave, rare ou potentiellement mortelle, ou soit destiné à être utilisé dans des situations d'urgence liées à une menace pour la santé publique.

L'ensemble des dispositions relatives à l'octroi d'une telle autorisation sont précisées dans le règlement (CE) n° 507/2006(116). Cette autorisation est valable un an, sur une base renouvelable et une fois les études en attente fournies, elle peut devenir une autorisation de mise sur le marché « normale ».

Récemment c'est par cette procédure, couplé à la procédure d'évaluation accélérée et une révision en continue via la création d'un groupe d'expert (117) que la mise sur le marché des vaccins contre la COVID-19 a pu être accéléré.

En 2016 l'EMA a publié un rapport (118) qui résume l'expérience acquise en matière d'autorisations de mise sur le marché conditionnelles depuis la première utilisation de cet outil en 2006 jusqu'au 30 juin 2016, offrant ainsi un aperçu des dix années écoulées. Au cours de cette période, 30 autorisations de mise sur le marché conditionnelles ont été accordées, parmi lesquelles 11 ont été converties en autorisations de mise sur le marché "standard", 2 ont été retirées pour des raisons commerciales tandis que les 17 autorisations restantes sont toujours conditionnelles au moment du rapport. Aucune autorisation de mise sur le marché n'a été retirée ou suspendue. Malgré le nombre relativement modeste d'autorisations de mise sur le marché conditionnelles accordées au cours des dix années écoulées depuis l'introduction de cette procédure en 2006, il y a une tendance croissante d'intérêt pour cette voie d'autorisation. Bien que seul un nombre limité de médicaments ait été concerné, avec une majorité ayant été convertie en autorisations de mise sur le marché standard, cela indique que cette approche réglementaire répond à un besoin important en permettant une mise à disposition plus rapide de médicaments pour des situations médicales non satisfaites. La durée relativement courte des autorisations conditionnelles et l'absence de révocation ou de suspension de ces autorisations témoignent également de l'efficacité de ce mécanisme dans le maintien des normes de sécurité et de qualité des médicaments autorisés. En somme, bien que le nombre absolu d'autorisations conditionnelles puisse ne pas être élevé, leur utilisation semble s'inscrire dans une tendance à la hausse, illustrant ainsi leur importance dans le paysage réglementaire pour répondre aux besoins médicaux urgents.

#### **III.4.3. L'AMM sous circonstance exceptionnelle(119)**

Un autre type d'AMM particulier est décrit par l'article 14, paragraphe 8, du règlement (CE) n° 726/2004, et la documentation pertinente pour ces demandes d'AMM sous circonstances exceptionnelles est fixée à l'annexe I, partie IV paragraphe G, de la directive 2001/83/CE.(120).

Contrairement à la demande d'AMM précédemment décrite, où il doit être démontré un équilibre positif entre les avantages et les risques, en attendant une confirmation ultérieure. Ici, Cela concerne les produits pour lesquels le demandeur de l'AMM peut démontrer qu'il n'est pas en mesure de fournir des données complètes sur l'efficacité et la sécurité dans des conditions normales d'utilisation. Et ce pour trois raisons, soit que les indications auxquelles le produit en question est destiné sont rencontrées si rarement qu'on ne peut raisonnablement s'attendre à ce que le demandeur fournisse des preuves complètes, ou, car dans l'état actuel de la connaissance scientifique, il est impossible de fournir des informations complètes. Ou enfin qu'il serait contraire aux principes d'éthique médicale de recueillir de telles informations.

À la suite de la justification détaillée d'une des raisons précédente, l'autorisation dans des circonstances exceptionnelles peut être accordée sous réserve de l'obligation pour le demandeur d'introduire des procédures spécifiques, notamment en ce qui concerne la sécurité du médicament, la notification aux autorités compétentes de tout incident lié à son utilisation et les mesures à prendre. Cette AMM sera réexaminée chaque année pour réévaluer le solde risque-avantage, dans le cadre d'une procédure de réévaluation annuelle et ne conduira normalement pas à l'achèvement d'un dossier complet et ne deviendra pas une autorisation de mise sur le marché "normale" contrairement à la procédure précédente

#### **III.4.4. Le programme PRIME(121)**

Le programme PRIME (PRiority MEDicines) est une initiative de l'EMA visant à accélérer le développement et l'évaluation des médicaments répondant à des besoins médicaux non satisfaits. Lancé en 2016, le programme PRIME offre un soutien aux entreprises pharmaceutiques pour accélérer le développement de médicaments prometteurs en fournissant un accès accru à l'expertise réglementaire de l'EMA et à des conseils scientifiques.

PRIME s'appuie sur le cadre réglementaire existant et les outils déjà disponibles tels que les avis scientifiques et l'évaluation accélérée. Les développeurs d'un médicament qui a bénéficié de PRIME peuvent s'attendre à être admissibles à une évaluation accélérée au moment de la demande d'autorisation de mise sur le marché.

Les médicaments éligibles au programme PRIME doivent cibler des maladies graves ou potentiellement mortelles pour lesquelles il existe un besoin médical non satisfait. Le programme vise à identifier les médicaments ayant le potentiel de répondre à ces besoins de santé publique de manière significative et à les accompagner tout au long de leur développement clinique.

Les avantages du programme PRIME comprennent un accès accru à l'EMA pour des conseils réglementaires, une assistance pour la conception des études cliniques, des évaluations scientifiques plus rapides et une interaction étroite avec les régulateurs tout au long du processus de développement du médicament. Cela permet aux entreprises pharmaceutiques de bénéficier d'une assistance réglementaire spécialisée et d'accélérer le processus d'approbation des médicaments, ce qui peut conduire à une disponibilité plus rapide de ces traitements pour les patients qui en ont besoin. Un dialogue précoce accompagné de conseils scientifiques garantit également que les patients ne participent qu'aux essais nécessaires conçus pour générer les données nécessaires, en faisant le meilleur usage des ressources limitées.

L'EMA aide également au développement des petites et moyennes entreprises (PME) et des candidats du secteur universitaire en leur offrant des avantages supplémentaires comme des exemptions de frais ou encore des réunions de sensibilisation aux exigences réglementaires.

### III.4.5. L'Autorisation Temporaire d'Utilisation

L'Autorisation Temporaire d'Utilisation (ATU) est un système permettant d'encadrer les médicaments sans AMM. C'est une spécificité née en France, rendant à titre exceptionnel et pour une durée limitée, éventuellement renouvelable, l'utilisation d'une spécialité pharmaceutique ne disposant pas d'une AMM ou pour des indications nouvelles d'une spécialité déjà autorisée. (122) Il a été mis en place pour permettre l'accès précoce à des médicaments innovants qui répondent à des besoins médicaux non satisfaits, notamment dans le cas de maladies graves ou rares pour lesquelles il n'existe pas de traitement disponible sur le marché.

Le dispositif des ATU permet aux patients de bénéficier de ces médicaments avant même qu'ils aient obtenu une AMM. Cela peut être crucial pour les patients dont la vie dépend de l'accès à ces traitements. Les autorisations temporaires sont délivrées par l'ANSM après évaluation du rapport bénéfice-risque du médicament.

Son origine remonte aux années 1980(123) où des besoins médicaux urgents, notamment dans le traitement du VIH pour lequel les patients étaient en impasse thérapeutique et nécessitaient un accès rapide à des médicaments en cours de développement ou déjà approuvés dans d'autres pays. Il était nécessaire d'encadrer rapidement la mise à disposition des nouveaux médicaments anti-VIH avant leur AMM

C'est alors qu'une loi imposant une réglementation plus stricte aux essais cliniques est adoptée en 1988. La loi n°88-1138 du 20 décembre 1988 relative à la protection des personnes qui se prêtent à des recherches biomédicales dite loi Huriet et appliqué par le décret n°90-872 du 27 septembre 1990. Elle mentionne que, « *En cas de nécessité impérieuse pour la santé publique, le promoteur peut être autorisé à fournir à titre onéreux à des établissements de soins un médicament dans des conditions fixées par les ministres chargés de la Santé et de la Sécurité sociale. Cette autorisation ne peut être accordée qu'après avis de la Commission mentionnée à l'article R. 5140 et lorsque toutes les conditions suivantes sont réunies :*

- *le médicament concerné est destiné à traiter une maladie grave,*
- *il ne peut être remplacé par aucun traitement,*
- *il existe des preuves d'efficacité et de sécurité suffisantes pour permettre son utilisation dans des conditions approuvées par le ministre de la Santé,*
- *le promoteur s'engage à poursuivre les essais nécessaires pour la constitution du dossier d'autorisation de mise sur le marché.*

*L'autorisation mentionnée au 2° alinéa du présent article est accordée pour une durée maximale d'un an. »*

Et c'est dans ce contexte que qu'un cadre réglementaire pour l'utilisation de médicament sans AMM a été introduite par l'article 21 de la loi n°92-1279 du 8 décembre 1992 modifiant le livre V du Code de la Santé Publique et relative à la pharmacie et au médicament.

Cet article introduit l'utilisation, à titre exceptionnel, de certains médicaments lorsque ceux-ci sont :

*« destinés à traiter des pathologies graves, alors qu'il n'existe pas d'alternative thérapeutique, dès lors que leur efficacité est fortement présumée au vu des résultats d'essais thérapeutiques auxquels il a été procédé en vue du dépôt d'une demande d'autorisation de mise sur le marché ;  
destinés à des patients atteints de maladies rares et dès lors qu'il n'existe aucun médicament déjà autorisé au sens de l'article L. 601 et susceptible de se substituer à eux ;  
importés en vue de leur prescription à des malades nommément désignés, sous la responsabilité de leur médecin traitant, dès lors qu'ils sont autorisés à l'étranger. »*

Le décret d'application n°94-568 du 8 juillet 1994 relatif aux autorisations temporaires d'utilisation de certains médicaments à usage humain et modifiant le code de la santé publique créé ainsi les articles R5142-20 à R5142-30 du code de la santé publique (124) portant sur l'autorisation temporaire d'utilisation et spécifiant les différentes conditions pour la délivrance de cette autorisation.

Au niveau européen cette option n'arrivera que plus tard. En effet, en 2001, la directive 2001/83/CE stipule en son article 6 (125) qu'« aucun médicament ne peut être mis sur le marché d'un État membre sans qu'une autorisation de mise sur le marché n'ait été délivrée par l'autorité compétente de cet État membre... ». Il faut donc qu'un médicament ai une AMM pour être mis sur le marché d'un État membre de l'union européenne. On retrouve cependant un bémol à l'article 5 de cette même directive qui stipule qu'« un État membre peut, conformément à la législation en vigueur et en vue de répondre à des besoins spéciaux, exclure des dispositions de la présente directive les médicaments fournis pour répondre à une commande loyale et non sollicitée, élaborés conformément aux spécifications d'un praticien agréé et destinés à ses malades particuliers sous sa responsabilité personnelle directe. »

Mais ce n'est qu'en 2004 que le règlement Européen 726/2004/CE (126) introduira un article semblable à la loi française. L'article 83 de ce règlement mentionne que « par dérogation à l'article 6 de la directive 2001/83/CE, les États membres peuvent rendre disponible en vue d'un usage compassionnel un médicament à usage humain [...] à un groupe de patients souffrant d'une maladie invalidante, chronique ou grave, ou d'une maladie considérée comme mettant la vie en danger, ces patients ne pouvant pas être traités de manière satisfaisante par un médicament autorisé. Le médicament concerné doit soit avoir fait l'objet d'une demande d'autorisation de mise sur le marché conformément à l'article 6 du présent règlement, soit être en cours d'essais cliniques. »

Pour revenir au système français, il était composé de 6 types d'ATU ce qui rendait le système complexe. C'est pour cela qu'en juillet 2021, dans un souci de simplification et d'accélération des démarches, il a été décidé via loi de financement de la Sécurité sociale et du décret de remplacer les ATU par deux nouveaux systèmes. Ces deux systèmes que sont l'accès précoce et l'accès compassionnel sont décrit dans le décret n° 2021-869 du 30 juin 2021 relatif aux autorisations d'accès précoce et compassionnel(127).

La figure 34 publié par l'ANSM(128) permet de faire la distinction entre les deux dispositifs.

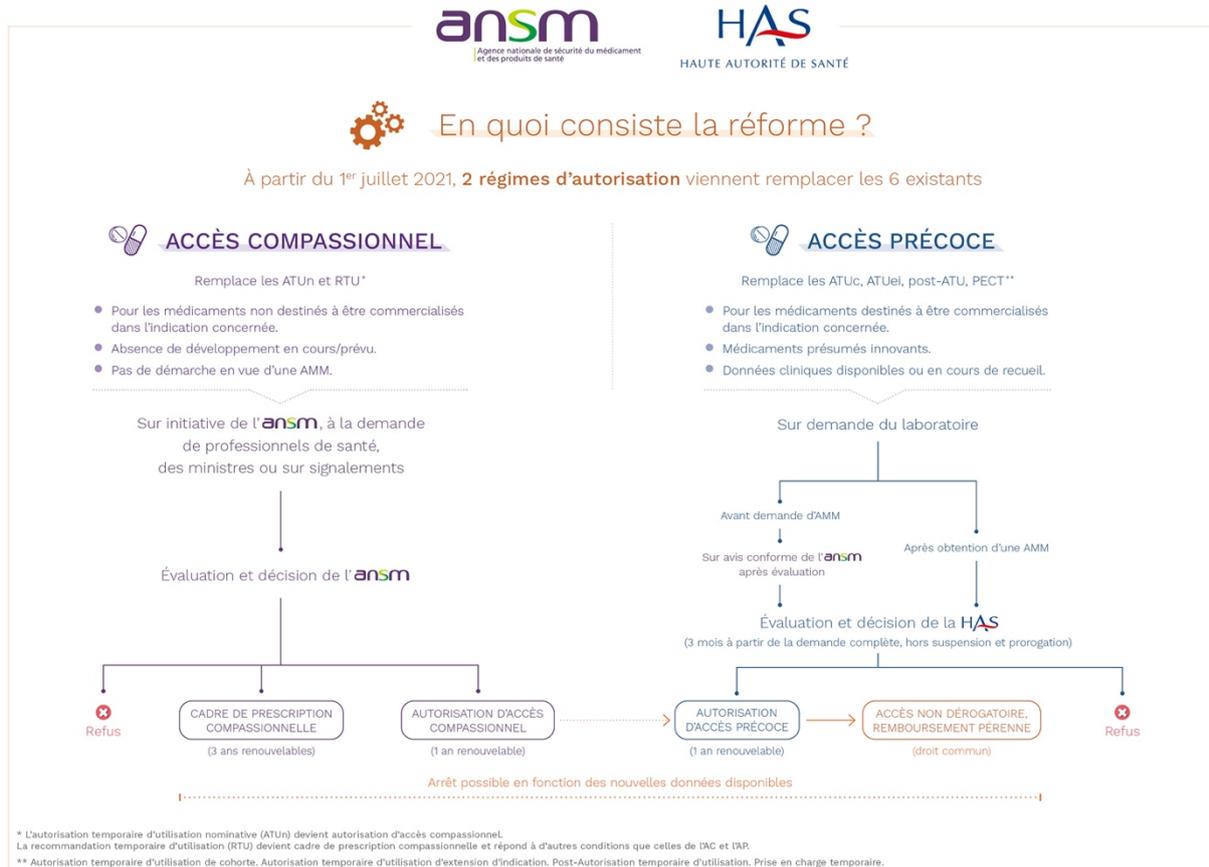


Figure 34 Comparaison des 2 types d'accès dérogatoire aux médicaments à la suite de la réforme de 2021

### III.4.5.1. L'accès compassionnel

Ce système se divise en deux cas de figure concernant l'accès à des médicaments pour le traitement de patients souffrant de maladies sans traitement approprié, dans une indication thérapeutique donnée sans projet de développement ou d'AMM en France.

L'accès compassionnel répond à des besoins médicaux non couverts par des médicaments ayant une stratégie commerciale. Il concerne soit :

- Un médicament non autorisé et non disponible en France, prescrit par un médecin hospitalier pour un patient spécifique si l'ANSM peut conclure à un rapport bénéfice/risque positif, c'est l'Autorisation d'Accès Compassionnel nominative (AAC).
- Un médicament disponible en France dans d'autres indications mais qui fait l'objet de d'une pratique de prescription hors AMM largement établie. C'est le cadre de prescription compassionnelle (CPC) et il est à l'initiative de l'ANSM. On peut donner comme exemple le Baclofène initialement indiqué comme myorelaxant mais qui avait un usage bien établi en traitement de deuxième intention de la consommation d'alcool dans l'alcoolisme chronique. Il avait par conséquent un CPC (ancien Recommandation Temporaire d'Utilisation) dans cette indication de 2014 à 2021 qui a pris fin à la suite de la mise sur le marché du Baclocur® pour cette même indication.

On note toutefois qu'une dérogation à cet accès compassionnel a été prévue sur demande d'un médecin prescripteur, pour un médicament qui ferait l'objet de recherche clinique dans une indication donnée à un stade très précoce. Cela étant un cas d'urgence pour un patient nécessitant le traitement de manière immédiate et dont l'attente de la mise en place des démarches serait impossible. C'est l'accès compassionnel « pré-précoce ».

### III.4.5.2. L'Autorisation d'Accès Précoce (AAP)

Cette autorisation permet de répondre à un besoin thérapeutique non satisfait, et pour traiter des maladies graves, rares ou invalidantes. Cela concerne les médicaments qui n'ont pas l'AMM dans cette indication mais pour lesquels une demande a été déposée ou le sera très prochainement, ou bien de médicaments ayant déjà une AMM dans l'indication concernée mais étant en attente de décision sur leur prise en charge par l'Assurance maladie.

Pour ce système c'est le laboratoire qui dépose sa demande auprès de la Haute Autorité de Santé (HAS), des ministres chargés de la Santé et de la Solidarité et le cas échéant de l'ANSM. L'accès précoce est réservé aux médicaments destinés à traiter des maladies graves, rares, ou invalidante dont l'efficacité et la sécurité sont fortement présumées dans une indication thérapeutique précise pour laquelle il n'existe pas de traitement approprié. De plus ces médicaments doivent être présumés innovants par l'HAS.

Le laboratoire doit aussi s'engager à déposer une demande d'AMM dans un délai fixé par la HAS qui ne peut excéder 2 ans après l'AAP.

Au niveau du financement, les médicaments qui bénéficient d'un accès précoce ou compassionnel sont pris en charge automatiquement à 100% par l'Assurance maladie dès que l'autorisation est donnée(129).

### III.6. L'analyse du marché

L'assurance maladie met à disposition une base de données public, Open Medic(130). Cette base offre un aperçu détaillé des prescriptions de médicaments remboursés en France. Cette ressource précieuse fournit des informations agrégées sur les médicaments délivrés en pharmacie de ville et remboursés par l'Assurance Maladie. Les données d'Open Medic couvrent l'ensemble des régimes d'assurance maladie et sont actualisées annuellement, permettant ainsi une analyse longitudinale des tendances de prescription. Elles incluent des informations telles que le nombre de boîtes remboursées, les montants remboursés, les caractéristiques démographiques des bénéficiaires (âge et sexe), ainsi que des détails sur les prescripteurs (spécialité médicale). Les médicaments sont identifiés par leur code CIP (Code Identifiant de Présentation) et classés selon la nomenclature ATC (Anatomique, Thérapeutique et Chimique) de l'OMS que nous détaillons juste après. Cette base de données constitue un outil précieux pour les chercheurs, les professionnels de santé et les décideurs politiques, offrant une vision globale et détaillée de la consommation de médicaments en France, tout en respectant l'anonymat des patients et des prescripteurs

Chaque médicament a un code ATC qui est un code en 7 éléments (lettres et chiffres) spécifique à un principe actif déterminé (ou à une association déterminée de principes actifs), et qui indique sa place dans la classification ATC.

Dans la classification ATC, les médicaments sont subdivisés en 14 groupes principaux sur base de l'organe ou du système sur lequel ils agissent. Ils sont ensuite encore répartis sur base de leurs propriétés chimiques, pharmacologiques et thérapeutiques en quatre niveaux supplémentaires.

Voici un tableau illustrant les différents niveaux de la classification ATC :

Tableau 2 Exemple de classification ATC

Niveau	Code	Description
1	N	Système nerveux
2	N05	Psycholeptiques
3	N05B	Anxiolytiques
4	N05BA	Dérivés de la benzodiazépine
5	N05BA01	Diazépam

Dans cet exemple :

- Le niveau 1 (N) représente le groupe anatomique principal (Système nerveux).
- Le niveau 2 (N05) indique le sous-groupe thérapeutique principal (Psycholeptiques).
- Le niveau 3 (N05B) correspond au sous-groupe pharmacologique (Anxiolytiques).
- Le niveau 4 (N05BA) représente le sous-groupe chimique (Dérivés de la benzodiazépine).
- Le niveau 5 (N05BA01) indique la substance chimique spécifique (Diazépam).

Nous avons donc choisi les données représentant les médicaments par classe ATC niveau 5. Cela nous permet d'obtenir les données de remboursement par molécule ce qui englobe également les génériques et les biosimilaires.

Ici la figure 35 représente un graphique reprenant les 10 premières molécules (classe ATC 5) depuis 2016.

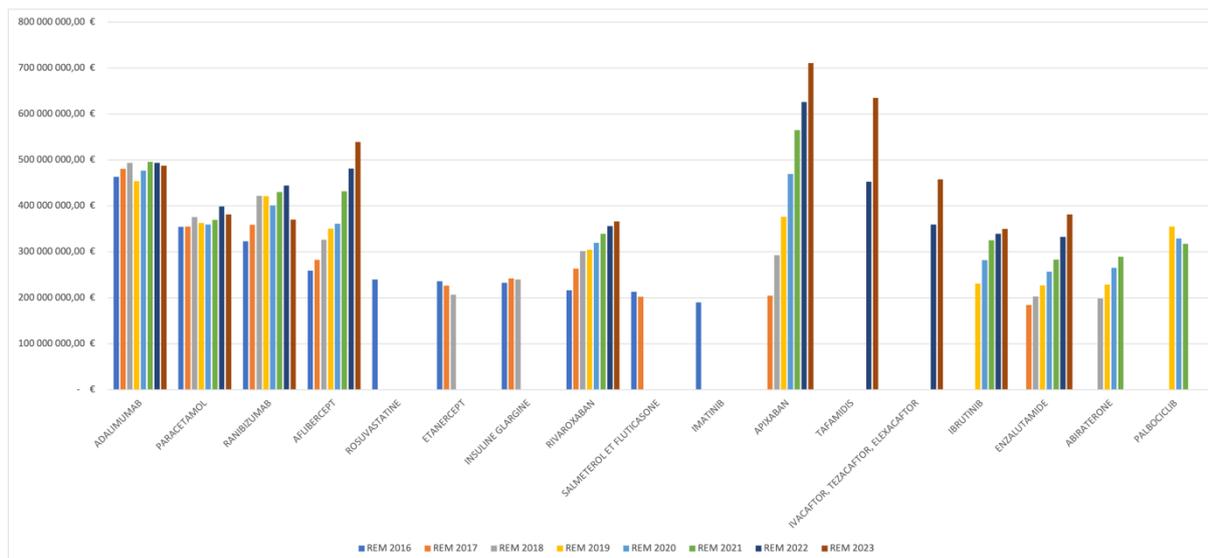


Figure 35 Graphique représentant le top 10 des molécules avec le montant de remboursement le plus élevé par année de 2016 à 2023

Au niveau des données, l'évolution des médicaments les plus coûteux pour l'assurance maladie entre 2016 et 2023 révèle une dynamique fascinante entre les médicaments biologiques et les médicaments chimiques traditionnels.

### III.6.1. Une croissance des médicaments biologiques

Les médicaments biologiques, issus des biotechnologies, ont connu une croissance significative au cours de cette période. Par exemple, l'Adalimumab, qui reste le médicament le plus coûteux, en moyenne sur ces dernières années, a vu ses dépenses passer de 463,4 millions d'euros en 2016 à 487,5 millions d'euros en 2023, représentant une augmentation de 5,2 %. Cette croissance modérée peut en partie s'expliquer par le grand nombre de biosimilaires de l'Humira disponible sur le marché. L'Aflibercept affiche une progression impressionnante de 108 %, passant de 259 millions d'euros en 2016 à 538,9 millions d'euros en 2023. Bien que l'Etanercept ait été présent jusqu'en 2018 avec des dépenses de 235,9 millions d'euros en 2016, il est clair que les biomédicaments dominent le paysage.

### III.6.2. La stabilité des médicaments chimiques traditionnels

En revanche, les médicaments chimiques traditionnels montrent une stabilité relative ou un déclin. Le Paracétamol, bien qu'il demeure parmi les plus coûteux, n'a enregistré qu'une augmentation modérée de 7,7 %, passant de 354,4 millions d'euros en 2016 à 381,5 millions d'euros en 2023. La Rosuvastatine, présente uniquement en 2016 avec des dépenses de 240,1 millions d'euros, a disparu du top 10 par la suite.

### **III.6.3. Les nouveaux médicaments chimiques avancés**

Les nouveaux médicaments chimiques qui intègrent des avancées biotechnologiques affichent également une croissance rapide. L'Apixaban a connu une croissance spectaculaire de 248 % au cours des six dernières années, passant de 204,4 millions d'euros en 2017 à un impressionnant 710,7 millions d'euros en 2023. De même, le Rivaroxaban a enregistré une augmentation de 69,4 %, passant de 216,3 millions d'euros en 2016 à 366,4 millions d'euros en 2023. L'Enzalutamide a progressé de manière significative avec une hausse de 107 %, passant de 184,3 millions d'euros en 2017 à 381,5 millions d'euros en 2023.

### **III.6.4. Les tendances émergentes**

Les tendances émergentes mettent également en lumière l'essor des thérapies de précision. Le Tafamidis a fait son entrée sur le marché en 2022 et a commencé sur la 4<sup>ème</sup> marche du podium avec des dépenses atteignant 452,4 millions d'euros et a connu une augmentation remarquable pour atteindre 635 millions d'euros en 2023. L'association Ivacaftor/Tezacaftor/Elexacaftor a débuté avec un coût de 359,4 millions d'euros en 2022 et a augmenté de 27,4 % pour atteindre 457,8 millions d'euros l'année suivante.

### **III.6.5. Une transition progressive**

Cette transition progressive est frappante : alors qu'en 2016 cinq des dix médicaments les plus coûteux étaient des biomédicaments ou des médicaments avancés, ce nombre est passé à huit sur dix en seulement sept ans. Cela illustre clairement la montée en puissance des traitements issus des biotechnologies.

### **III.6.6. L'impact économique**

Enfin, l'impact économique est indéniable. Le coût total des dix médicaments les plus chers est passé de 2,73 milliards d'euros en 2016 à un impressionnant 4,68 milliards d'euros en 2023, soit une augmentation de 71,4 %. Les biomédicaments et les nouveaux médicaments chimiques développés grâce aux biotechnologies représentent la majorité de cette hausse.

En somme, cette analyse met en lumière non seulement la croissance significative des dépenses liées aux médicaments biologiques mais aussi l'influence croissante des biotechnologies dans le développement de nouveaux traitements chimiques. Cette dynamique souligne un changement majeur dans le paysage pharmaceutique et les défis économiques associés pour l'assurance maladie. Il sera intéressant de suivre cette variation dans les années à venir. D'autant que si on étudie le top 20, des anticorps se font leur place mais plus on descend dans le classement plus les sommes se rapprochent et cela est moins pertinent.

### **III.7. Entretien avec un acteur du milieu**

Afin d'améliorer ma compréhension du milieu des start-up j'ai choisi d'interviewer un acteur de ce milieu. Monsieur Maxime Jouaud, Directeur général de l'entreprise InSiliBio®, une start-up innovante spécialisée dans un domaine d'avenir. C'est est une Contract Reasearch Organization (CRO), une organisation de recherche sous contrat, novatrice. C'est une entreprise qui, via des méthodes informatiques innovantes de modélisation moléculaire, analyse des molécules afin d'en connaître leurs caractéristiques physico-chimiques et biologiques. Lors de la phase de développement d'un nouvel actif, qui peut être pharmaceutique, cosmétique ou agroalimentaire, les entreprises réalisent de longues recherches qui nécessitent souvent de lourds investissements. Ces essais, bien que nécessaires, sont souvent réalisés sur des organismes vivants (animaux, cellules humaines, etc.). Si les humains donnent leur consentement, ce n'est pas le cas des animaux, et ce point éthique tend à être reconsidéré. InSiliBio® propose justement de passer outre ce point en passant par des techniques économiques, éthiques, et robustes. Ces approches digitales donnent la possibilité aux clients d'InSilibio® d'optimiser leurs programmes R&D en diminuant les coûts et les temps requis. Tout ceci fait d'InSiliBio® une entreprise pionnière dans les milieux pharmaceutique, cosmétique et agroalimentaire.

#### **III.7.1. L'impact des plans de relance et situation économique**

Contrairement à d'autres entreprises, InSiliBio® n'a pas été directement impactée par les plans de relance gouvernementaux liés à la crise du COVID-19. M. Jouaud explique, que l'entreprise n'y avait pas spécialement droit mais que dans le même temps ils n'en avaient pas particulièrement besoin puisque le Covid a été plutôt une opportunité pour InSiliBio® notamment en permettant la continuité de l'activité en distanciel et l'acquisition de nouveaux contrats avec des clients dont les laboratoires étaient fermés. Les restrictions appliquées durant la période de crise ont permis à InSiliBio® d'améliorer son efficacité commerciale, d'élargir sa portée géographique sans augmenter ses coûts, et de bénéficier d'une meilleure réceptivité de la part des clients potentiels. Ainsi, le nouveau paradigme commercial, accéléré par la crise sanitaire, a clairement été bénéfique pour l'entreprise. InSiliBio® a tout de même pu bénéficier d'une aide de la région par une suspension du remboursement du prêt d'honneur dont avait bénéficié la société à sa création ce qui a tout de même soulagé la trésorerie de l'entreprise en période de crise.

#### **III.7.2. Les soutiens gouvernementaux**

Au-delà des plans de relances l'entreprises bénéficie de soutiens gouvernementaux tels que le CIR et le statut JEI qui sont des leviers essentiels pour InSiliBio® dans son développement et sa stratégie commerciale. Bien que l'entreprise fasse face à des défis liés à la gestion de trésorerie en raison des délais associés au CIR, ces dispositifs lui offrent une base solide pour continuer à innover et à croître dans un environnement économique compétitif. M. Jouaud exprime toutefois ses inquiétudes quant à la pérennité de ces soutiens dans un contexte où l'État pourrait réduire ses budgets alloués aux startups innovantes.

### **III.7.3. Les principaux défis économiques**

Le principal défi économique d'InSiliBio® est la gestion du besoin en fonds de roulement, typique d'une jeune entreprise n'ayant pas réalisé de levée de fonds. M. Jouaud souligne les difficultés liées aux délais de paiement des clients et au décalage dans le versement du CIR. Dans le contexte économique et géopolitique actuel, l'entreprise fait également face un défi de développement commercial. InSiliBio® rencontre des difficultés pour acquérir de nouveaux clients et contrats mais maintient un effort commercial accru. L'entreprise reste dans une situation économique stable grâce à ses clients fidèles

### **III.7.4. Les perspectives et l'adaptabilité**

M. Jouaud souligne les avantages multiples dont bénéficie InSiliBio® en tant que start-up, tout en exprimant des inquiétudes quant à la pérennité de ces dispositifs de soutien. La petite taille de l'entreprise est vue comme un atout majeur : "Petite structure veut dire grande souplesse et très forte adaptabilité." Cette flexibilité se manifeste à travers plusieurs dimensions : une équipe jeune avec une aisance à accepter les modifications, des contraintes réglementaires légères dans un domaine émergent, et l'absence d'un système qualité complexe. Cette agilité permet à l'entreprise de réagir rapidement aux évolutions du marché, de répondre efficacement aux besoins des clients, et de proposer des solutions innovantes que les grandes structures ne peuvent pas mettre en place aussi rapidement. De plus, cette adaptabilité devient un réel avantage concurrentiel, incitant même certains clients à sous-traiter leurs activités de recherche à InSiliBio® plutôt que de les internaliser, en raison de la capacité de l'entreprise à transférer des technologies et à former rapidement ses partenaires.

### **III.7.5. Le soutien gouvernemental aux start-up : un rouage complexe**

En définitive, le rôle du gouvernement et son impact sur InSiliBio® révèlent une dynamique complexe. D'une part, le soutien gouvernemental, notamment à travers le Crédit d'Impôt Recherche (CIR) et le statut Jeune Entreprise Innovante (JEI), s'avère crucial pour la croissance et la stabilité financière de l'entreprise. Cependant, des inquiétudes persistent quant à la pérennité de ces aides, compte tenu des contraintes budgétaires de l'État. La structure légère d'InSiliBio® lui confère une adaptabilité face aux changements réglementaires et économiques, un avantage par rapport aux grandes entreprises. Bien que n'ayant pas directement bénéficié des plans de relance liés à la COVID-19, InSiliBio® a indirectement profité du maintien de l'activité économique de ses clients grâce à ces mesures. Dans un contexte économique incertain, le soutien gouvernemental à la R&D demeure essentiel pour la compétitivité à long terme des entreprises innovantes. Néanmoins, anticipant d'éventuelles réductions futures des dispositifs de soutien, InSiliBio® adopte une approche prudente en développant un modèle économique capable de fonctionner sans ces aides, illustrant ainsi l'équilibre délicat entre le soutien gouvernemental et l'autonomie entrepreneuriale.

## Conclusion

---

En conclusion, les médicaments issus des biotechnologies ont profondément transformé le paysage pharmaceutique français, apportant des innovations majeures dans le traitement de nombreuses pathologies complexes. Cette révolution s'articule autour de trois axes principaux : le développement réglementaire, l'innovation technologique et les enjeux économiques.

Sur le plan réglementaire, la France a mis en place un cadre adapté pour accompagner l'essor des biomédicaments. Les procédures d'autorisation de mise sur le marché (AMM) ont été ajustées pour prendre en compte les spécificités de ces produits, avec notamment l'introduction de leviers d'accélération tels que l'AMM conditionnelle, l'AMM sous circonstances exceptionnelles, le programme PRIME et les autorisations d'accès précoce. Ces mécanismes permettent un accès plus rapide des patients aux traitements innovants tout en garantissant leur sécurité.

L'innovation technologique est au cœur de cette transformation. Les avancées dans les domaines des protéines recombinantes, des anticorps monoclonaux et des thérapies cellulaires et géniques ont ouvert de nouvelles voies thérapeutiques. Ces technologies permettent de cibler des mécanismes pathologiques avec une précision sans précédent, offrant des traitements personnalisés et potentiellement curatifs, et souvent mieux tolérés que les approches traditionnelles, pour des maladies auparavant incurables.

Les enjeux économiques sont considérables. Le marché des biomédicaments connaît une croissance soutenue, stimulée par des politiques publiques incitatives telles que le programme France 2030 et le Crédit d'Impôt Recherche. Ces mesures visent à renforcer la position de la France dans ce secteur stratégique, en soutenant la recherche et le développement, ainsi que la création et la croissance d'entreprises innovantes.

Cependant, cette transformation n'est pas sans défis. La complexité des processus de production, les coûts élevés de développement et de fabrication, ainsi que les questions d'accessibilité et de remboursement restent des enjeux majeurs. De plus, le progrès rapide des technologies nécessite une adaptation constante du cadre réglementaire et des compétences des professionnels du secteur.

Malgré ces défis, l'impact des biomédicaments sur le paysage pharmaceutique français est indéniable. Ils ont non seulement révolutionné les approches thérapeutiques, mais ont également stimulé l'innovation, la recherche et l'économie du pays. À l'avenir, le succès continu de ce secteur dépendra de la capacité de la France à maintenir un équilibre entre innovation, réglementation et accessibilité, tout en restant à la pointe de la recherche et du développement dans ce domaine en constante progression.

Dans le cadre de cette thèse, plusieurs limites se doivent d'être soulignées. La rapidité de l'évolution technologique dans ce domaine peut rendre certaines informations rapidement obsolètes. L'analyse s'est principalement concentrée sur le contexte français, limitant potentiellement la généralisation des conclusions à d'autres pays. Pour approfondir cette recherche, plusieurs axes mériteraient d'être explorés. Une étude comparative internationale des politiques de régulation et de soutien aux biomédicaments serait pertinente. Une analyse approfondie des implications éthiques et sociétales de ces nouvelles thérapies, notamment en termes d'accès aux soins et d'équité, serait également nécessaire. De même il serait approprié de réaliser une évaluation prospective des futures technologies de biotechnologie médicale. Enfin cela s'avèrerait également judicieux d'étudier l'impact environnemental de la production de biomédicaments et les stratégies pour le minimiser.

Il est important de noter que certaines branches importantes des biotechnologies médicales n'ont pas été traitées dans cette thèse. Ces domaines incluent les vaccins de nouvelle génération, la thérapie tissulaire et l'ingénierie tissulaire, l'impression 3D d'organes et de tissus, la médecine régénérative, ainsi que les biocapteurs et la nanomédecine entre autres. Ces axes de recherche représentent des domaines prometteurs qui pourraient avoir un impact significatif sur l'avenir de la médecine et seraient digne d'une étude approfondie dans le cadre de futures recherches.

En définitive, les médicaments issus des biotechnologies représentent bien plus qu'une simple avancée technologique ; ils incarnent une nouvelle ère de la médecine, promettant des traitements plus efficaces et personnalisés, tout en redéfinissant les contours de l'industrie pharmaceutique française.

Pour conclure cette réflexion sur l'impact transformateur des médicaments issus des biotechnologies sur le paysage pharmaceutique français, il est pertinent de considérer les implications plus larges de ces avancées technologiques pour l'avenir de la médecine et de l'humanité. En effet, les progrès réalisés dans ce domaine soulèvent des questions fondamentales sur notre capacité à façonner notre futur médical et sociétal.

Dans cette optique, cette citation résonne avec une acuité particulière :

*« Biotechnology has brought humanity to this level of comfort; the next question is, where will it take us? Biotechnology has both beneficial and destructive potentials. It is, WE who should decide how to use this technology to help humanity rather than to destroy it. »<sup>(8)</sup><sup>2</sup>*

Cette citation souligne admirablement le double tranchant des biotechnologies. D'un côté, elles offrent un potentiel immense pour améliorer la santé humaine et résoudre des problèmes médicaux complexes. De l'autre, elles soulèvent des questions éthiques et sociétales profondes sur leur utilisation et leurs limites. Ainsi, alors que nous célébrons les avancées remarquables des biomédicaments en France, nous devons également rester vigilants et réfléchir collectivement à la direction que nous souhaitons donner à ces technologies. L'avenir des biotechnologies dépendra de notre capacité à naviguer entre innovation et responsabilité, entre progrès scientifique et considérations éthiques.

En fin de compte, comme le suggère cette citation, c'est à nous, en tant que société, de décider comment utiliser ces puissants outils pour le bien de l'humanité. Le défi pour la France, et pour le monde entier, sera de continuer à innover tout en s'assurant que ces innovations servent véritablement l'intérêt général et contribuent à un avenir médical plus prometteur et équitable pour tous.

---

<sup>2</sup> La biotechnologie a permis à l'humanité d'atteindre ce niveau de confort ; la question suivante est de savoir où elle nous mènera. Les biotechnologies ont un potentiel à la fois bénéfique et destructeur. C'est à NOUS de décider comment utiliser cette technologie pour aider l'humanité plutôt que pour la détruire. [Traduction personnelle]

## Références bibliographiques

---

1. Bud R. Biotechnology in the Twentieth Century. *Social Studies of Science* [Internet]. 1991 [cité 11 janv 2024];21(3):415-57. Disponible sur: <https://www.jstor.org/stable/285174>
2. Bud R. The revolutionary implications of the word biotechnology. *Med Secoli*. 2002;14(3):723-38.
3. Biotechnologie — acadpharm [Internet]. [cité 11 janv 2024]. Disponible sur: <https://dictionnaire.acadpharm.org/w/Biotechnologie>
4. Définition statistique de la biotechnologie (mise à jour en 2005) - OCDE [Internet]. [cité 14 nov 2023]. Disponible sur: <https://www.oecd.org/fr/sti/tech-emergentes/definitionstatistiquedelabiotechnologiemiseajouren2005.htm>
5. AZoLifeSciences.com [Internet]. 2021 [cité 14 nov 2023]. The Colors of Biotechnology; What do they mean? Disponible sur: <https://www.azolifesciences.com/article/The-Colors-of-Biotechnology3b-What-do-they-mean.aspx>
6. Kafarski P. Rainbow code of biotechnology. *Chemik*. 1 janv 2012;66:814-6.
7. Coutouly G. Les biotechnologies : la part industrielle Une approche [Internet]. 2002 [cité 11 janv 2024]. Disponible sur: <https://perso.univ-rennes1.fr/antoine.gravot/index.htm/M1%20BiotecVeg%202011-2012/BIBLIO%20COURS/G%C3%A9nardCoutouly.pdf>
8. Verma AS, Agrahari S, Rastogi S, Singh A. Biotechnology in the Realm of History. *J Pharm Bioallied Sci* [Internet]. 2011 [cité 11 janv 2024];3(3):321-3. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3178936/>
9. Fabienne PS. UE1 - Biotechnologies et applications - génomique, transcriptome, méthylome, protéome, transgénèse animale - 2e édition [Internet]. [cité 11 janv 2024]. Disponible sur: [https://www.editions-ellipses.fr/accueil/7781-18113-ue1-biotechnologies-et-applications-genomique-transcriptome-methylome-proteome-transgenese-animale-2e-edition-9782340016385.html#/1-format\\_disponible-broche](https://www.editions-ellipses.fr/accueil/7781-18113-ue1-biotechnologies-et-applications-genomique-transcriptome-methylome-proteome-transgenese-animale-2e-edition-9782340016385.html#/1-format_disponible-broche)
10. Sponk. Français : Différence entre ADN et ARN [Internet]. 2017 [cité 17 oct 2024]. Disponible sur: [https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Difference\\_DNA-RNA-FR.svg](https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Difference_DNA-RNA-FR.svg)
11. Génétique médicale : ADN, hérédité, tests - Agence biomédecine [Internet]. [cité 17 oct 2024]. Les notions-clés de la génétique médicale. Disponible sur: <https://www.genetique-medicale.fr/la-genetique-l-essentiel/les-notions-cles-de-la-genetique/article/les-notions-cles-de-la-genetique-medicale>
12. RT-PCR quantitative - qRT-PCR Clinisciences [Internet]. [cité 17 oct 2024]. Disponible sur: <https://www.clinisciences.com/achat/cat-rt-pcr-quantitative-qrt-pcr-3474.html>
13. Le test PCR comme outil de diagnostic (1/2) : Principes de base [Internet]. 2022 [cité 29 oct 2024]. Disponible sur: [https://www.3trois3.com/articles/le-test-pcr-comme-outil-de-diagnostic-1-2-principes-de-base\\_15823/](https://www.3trois3.com/articles/le-test-pcr-comme-outil-de-diagnostic-1-2-principes-de-base_15823/)
14. Fonctionnement et fiabilité des tests RT-PCR pour la détection du SARS-CoV-2 [Internet]. [cité 17 oct 2024]. Disponible sur: <https://www.pasteur.fr/fr/espace-presse/documents-presse/fonctionnement-fiabilite-tests-rt-pcr-detection-du-sars-cov-2>

15. Comment la RT-PCR en temps réel permet-elle de détecter le virus de la COVID-19 ? [Internet]. IAEA; 2020 [cité 22 oct 2024]. Disponible sur: <https://www.iaea.org/fr/bulletin/comment-la-rt-pcr-en-temps-reel-permet-elle-de-detecter-le-virus-de-la-covid-19>
16. Séquençage Sanger : étapes et méthode [Internet]. [cité 22 oct 2024]. Disponible sur: <https://www.sigmaaldrich.com/FR/fr/technical-documents/protocol/genomics/sequencing/sanger-sequencing#>
17. Dijk E van. Planet-Vie. 2021 [cité 22 oct 2024]. La révolution de la génomique : les nouvelles méthodes de séquençage et leurs applications. Disponible sur: <https://planet-vie.ens.fr/thematiques/manipulations-en-laboratoire/la-revolution-de-la-genomique-les-nouvelles-methodes-de>
18. Biochimie des protéines BCM514 [Internet]. [cité 24 oct 2024]. Disponible sur: <https://biochimiedesproteines.espaceweb.usherbrooke.ca/2a.html>
19. Biochimie des protéines BCM514 [Internet]. [cité 24 oct 2024]. Disponible sur: <https://biochimiedesproteines.espaceweb.usherbrooke.ca/2d.html>
20. SIMON M. Cours Pharmacie. 2011 [cité 24 oct 2024]. Structures des protéines. Disponible sur: <https://www.cours-pharmacie.com/biochimie/structures-des-proteines.html>
21. Loumé L. Sciences et Avenir. 2015 [cité 24 oct 2024]. Des scientifiques créent en laboratoire du ribosome, élément clé de la vie. Disponible sur: [https://www.sciencesetavenir.fr/sante/des-scientifiques-creent-en-laboratoire-du-ribosome-element-essentiel-aux-cellules\\_23426](https://www.sciencesetavenir.fr/sante/des-scientifiques-creent-en-laboratoire-du-ribosome-element-essentiel-aux-cellules_23426)
22. AquaPortail [Internet]. [cité 24 oct 2024]. Modification post-traductionnelle : définition et explications. Disponible sur: <https://www.aquaportail.com/dictionnaire/definition/14571/modification-post-traductionnelle>
23. Groux-Degroote S, Foulquier F, Cavdarli S, Delannoy P. Les mécanismes de régulation de la glycosylation - Exemples d'altérations des chaînes glycaniques dans les cancers. Med Sci (Paris) [Internet]. 1 juin 2021 [cité 25 oct 2024];37(6-7):609-17. Disponible sur: <https://www.medecinesciences.org/articles/medsci/abs/2021/06/msc200345/msc200345.html>
24. sport AA Kinésithérapeute et Ostéopathe du. Protéines : définition, rôle et sources alimentaires • Tout pour ma santé [Internet]. Tout pour ma santé. 2021 [cité 24 oct 2024]. Disponible sur: <https://toutpourmasante.fr/le-role-des-proteines-et-leurs-bienfaits/>
25. Futura [Internet]. [cité 29 oct 2024]. Définition | Plasmide | Futura Santé. Disponible sur: <https://www.futura-sciences.com/sante/definitions/biologie-plasmide-4557/>
26. La production des biomédicaments [Les médicaments biosimilaires] [Internet]. [cité 20 mars 2024]. Disponible sur: [https://mdegraaf.scenari-community.org/Les%20m%C3%A9dicaments%20biosimilaires/co/Les\\_medicaments\\_biosimilaires\\_15.html](https://mdegraaf.scenari-community.org/Les%20m%C3%A9dicaments%20biosimilaires/co/Les_medicaments_biosimilaires_15.html)
27. 3: Clonage d'un gène - BiOutils [Internet]. [cité 21 mars 2024]. Disponible sur: <https://www.bioutils.ch/protocoles/3-clonage-dun-gene>

28. Q 5 D Quality of Biotechnological Products: Derivation and Characterisation of Cell Substrates Used for Production of Biotechnological/Biological Products. 2006;
29. Saluzzo JF. CIF vaccinologie 2011 - Fabrication et contrôle des vaccins | Canal U [Internet]. 2011 [cité 21 mars 2024]. Disponible sur: <https://www.canal-u.tv/chaines/canal-u-medecine/vaccinologie-clinique-paris-2011-hopital-du-val-de-grace/cif-18>
30. Moore A, Mercer J, Dutina G, Donahue CJ, Bauer KD, Mather JP, et al. Effects of temperature shift on cell cycle, apoptosis and nucleotide pools in CHO cell batch cultures. *Cytotechnology*. janv 1997;23(1-3):47-54.
31. Joubert S, Dodelet V, Béliard R, Durocher Y. La bioproduction des anticorps monoclonaux. *Med Sci (Paris)* [Internet]. 1 déc 2019 [cité 5 nov 2024];35(12):1153-9. Disponible sur: <https://www.medecinesciences.org/articles/medsci/abs/2019/12/msc190035/msc190035.html>
32. Grugier J, Gatefin B. La Vague n°41 Avril 2014. *calameo.com* [Internet]. avr 2014 [cité 4 avr 2024];(41):25. Disponible sur: <https://www.calameo.com/read/00277058292d893c302a4>
33. Schalck-Schmitt L, Gatefin B, .evacher E, Grugier J. La Vague n°32 août 2011. *calameo.com* [Internet]. aout 2011 [cité 21 mars 2024];(32):17. Disponible sur: <https://www.calameo.com/read/00277058207ee9db4ffa7>
34. Guide sur les médicaments biologiques biosimilaires à l'intention des professionnels de la santé : À propos des médicaments biologiques et biosimilaires [Internet]. 2023 [cité 12 avr 2024]. Disponible sur: <https://www.canada.ca/fr/sante-canada/services/medicaments-produits-sante/produits-biologiques-radiopharmaceutiques-therapies-genetiques/medicaments-biologiques-similaires/guide-intention-professionnels-sante/propos.html>
35. Bogosian G, Violand BN, Dorward-King EJ, Workman WE, Jung PE, Kane JF. Biosynthesis and Incorporation into Protein of Norleucine by *Escherichia coli*. *Journal of Biological Chemistry* [Internet]. 5 janv 1989 [cité 11 avr 2024];264(1):531-9. Disponible sur: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0021925817312917>
36. Schellekens H. Bioequivalence and the immunogenicity of biopharmaceuticals. *Nat Rev Drug Discov* [Internet]. juin 2002 [cité 18 avr 2024];1(6):457-62. Disponible sur: <https://www.nature.com/articles/nrd818>
37. Gallais Y. Effet des agrégats de protéines sur la maturation des cellules dendritiques : implication dans l'immunogénicité des protéines thérapeutiques [Internet] [phdthesis]. Université Paris Saclay (COMUE); 2016 [cité 6 nov 2024]. Disponible sur: <https://theses.hal.science/tel-01521577>
38. Immunogénicité : Guide sur les médicaments biologiques biosimilaires à l'intention des professionnels de la santé [Internet]. 2023 [cité 18 avr 2024]. Disponible sur: <https://www.canada.ca/fr/sante-canada/services/medicaments-produits-sante/produits-biologiques-radiopharmaceutiques-therapies-genetiques/medicaments-biologiques-similaires/guide-intention-professionnels-sante/immunogenicite.html>

39. Maillère B, Delluc S, Ravot G. La prédiction de l'immunogénicité des protéines thérapeutiques. *Med Sci (Paris)* [Internet]. 1 janv 2012 [cité 6 nov 2024];28(1):82-8. Disponible sur: <https://www.medecinesciences.org/articles/medsci/abs/2012/01/medsci2012281p82/medsci2012281p82.html>
40. Wang BS, Search DJ, Lumanglas AA, Ingling J, Corbett MJ, Shieh HM, et al. Augmentation of hormonal activities with antibodies from cattle immunized with a combination of synthetic and recombinant growth hormone peptide. *Anim Biotechnol.* 1998;9(1):21-33.
41. Novo Nordisk [Internet]. [cité 9 oct 2024]. Insuline 100 ans. Disponible sur: <https://www.novonordisk.fr/content/nncorp/fr/fr/about/insulin-100-years.html>
42. Pestka S. The interferons: 50 years after their discovery, there is much more to learn. *J Biol Chem.* 13 juill 2007;282(28):20047-51.
43. La fabrication de l'hormone de croissance humaine permettra de traiter tous les cas de nanismes. 29 oct 1979 [cité 30 oct 2024]; Disponible sur: [https://www.lemonde.fr/archives/article/1979/10/29/la-fabrication-de-l-hormone-de-croissance-humaine-permettra-de-traiter-tous-les-cas-de-nanismes\\_2792656\\_1819218.html](https://www.lemonde.fr/archives/article/1979/10/29/la-fabrication-de-l-hormone-de-croissance-humaine-permettra-de-traiter-tous-les-cas-de-nanismes_2792656_1819218.html)
44. Universalis E. Encyclopædia Universalis. [cité 9 oct 2024]. R-MOLÉCULES ou PROTÉINES RECOMBINANTES. Disponible sur: <https://www.universalis.fr/encyclopedie/r-molecules-proteines-recombinantes/>
45. Inhibiteurs de Protéines Kinases [Internet]. [cité 9 oct 2024]. Disponible sur: <https://pharmacomedicale.org/medicaments/par-specialites/item/inhibiteurs-de-proteines-kinases>
46. Qu'est-ce que l'immunité adaptative ? Les mécanismes du système immunitaire [Internet]. [cité 11 oct 2024]. Disponible sur: <https://www.boiron.fr/nos-conseils-sante/quest-ce-que-l-immunite-adaptative>
47. Définition antigène [Internet]. [cité 11 oct 2024]. Disponible sur: <https://www.e-cancer.fr/Dictionnaire/A/antigene#>
48. StudySmarter FR [Internet]. [cité 11 oct 2024]. Immunité adaptative : définition et fonction | StudySmarter. Disponible sur: <https://www.studysmarter.fr/resumes/biologie/corps-humain/immunite-adaptative/>
49. Futura [Internet]. [cité 5 nov 2024]. Définition | Anticorps polyclonal - Anticorps polyclonaux | Futura Santé. Disponible sur: <https://www.futura-sciences.com/sante/definitions/medecine-anticorps-polyclonal-13324/>
50. Alava T. Conception, fabrication, caractérisation de micromembranes résonantes en silicium, à actionnement piézoélectrique et détection piézorésistive intégrés appliquées à la détection d'agents biologiques simulant la menace. 1 oct 2010;
51. IMMUNOGLOBULINES - STRUCTURE ET FONCTION [Internet]. [cité 31 oct 2024]. Disponible sur: <https://www.microbiologybook.org/French-immuno/immchapter4.htm>
52. Köhler G, Milstein C. Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity. *Nature* [Internet]. août 1975 [cité 31 oct 2024];256(5517):495-7. Disponible sur: <https://www.nature.com/articles/256495a0>

53. Diallo BK, Riffard C, Le Gouge K, Teillaud JL. Les anticorps monoclonaux: L'histoire d'une recherche fondamentale ou la curiosité comme source de richesse. *Med Sci (Paris)* [Internet]. déc 2019 [cité 31 oct 2024];35(12):926-36. Disponible sur: <https://www.medecinesciences.org/10.1051/medsci/2019222>
54. Bourel D, Teillaud JL. Anticorps monoclonaux : tours et détours technologiques pour de nouveaux espoirs thérapeutiques. *Comptes Rendus Biologies* [Internet]. 29 mars 2006 [cité 6 nov 2024];329(4):217. Disponible sur: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC7105179/>
55. Hozumi N, Tonegawa S. Evidence for somatic rearrangement of immunoglobulin genes coding for variable and constant regions. *Proc Natl Acad Sci U S A.* oct 1976;73(10):3628-32.
56. Boulianne GL, Hozumi N, Shulman MJ. Production of functional chimaeric mouse/human antibody. *Nature* [Internet]. déc 1984 [cité 7 nov 2024];312(5995):643-6. Disponible sur: <https://www.nature.com/articles/312643a0>
57. Morrison SL, Johnson MJ, Herzenberg LA, Oi VT. Chimeric human antibody molecules: mouse antigen-binding domains with human constant region domains. *Proc Natl Acad Sci U S A.* nov 1984;81(21):6851-5.
58. Replacing the complementarity-determining regions in a human antibody with those from a mouse - PubMed [Internet]. [cité 7 nov 2024]. Disponible sur: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3713831/>
59. Roguska MA, Pedersen JT, Keddy CA, Henry AH, Searle SJ, Lambert JM, et al. Humanization of murine monoclonal antibodies through variable domain resurfacing. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1 févr 1994;91(3):969-73.
60. McCafferty J, Griffiths AD, Winter G, Chiswell DJ. Phage antibodies: filamentous phage displaying antibody variable domains. *Nature.* 6 déc 1990;348(6301):552-4.
61. Green LL, Hardy MC, Maynard-Currie CE, Tsuda H, Louie DM, Mendez MJ, et al. Antigen-specific human monoclonal antibodies from mice engineered with human Ig heavy and light chain YACs. *Nat Genet.* mai 1994;7(1):13-21.
62. Lonberg N, Taylor LD, Harding FA, Trounstine M, Higgins KM, Schramm SR, et al. Antigen-specific human antibodies from mice comprising four distinct genetic modifications. *Nature.* 28 avr 1994;368(6474):856-9.
63. Salaün H, Ternant D, Cancel M, Linassier C, Paintaud G. Pharmacologie des anticorps monoclonaux à usage thérapeutique dans le cancer. *Innovations & Thérapeutiques en Oncologie* [Internet]. 1 sept 2019 [cité 7 nov 2024];5(5):255-66. Disponible sur: [https://www.jle.com/fr/revues/ito/e-docs/pharmacologie\\_des\\_anticorps\\_monoclonaux\\_a\\_usage\\_therapeutique\\_dans\\_le\\_cancer\\_315393/article.phtml?tab=texte](https://www.jle.com/fr/revues/ito/e-docs/pharmacologie_des_anticorps_monoclonaux_a_usage_therapeutique_dans_le_cancer_315393/article.phtml?tab=texte)
64. ScFv Antibody Products - Creative Biolabs [Internet]. [cité 7 nov 2024]. Disponible sur: [https://www.creativebiolabs.net/scfv-fragment-antibodies\\_25.htm](https://www.creativebiolabs.net/scfv-fragment-antibodies_25.htm)
65. Ledsgaard L, Kilstrup M, Karatt-Vellatt A, Mccafferty J, Laustsen A. Basics of Antibody Phage Display Technology. *Toxins.* 9 juin 2018;10:236.

66. O'Connell D, Becerril B, Roy-Burman A, Daws M, Marks JD. Phage *versus* Phagemid Libraries for Generation of Human Monoclonal Antibodies. *Journal of Molecular Biology* [Internet]. 2 août 2002 [cité 8 nov 2024];321(1):49-56. Disponible sur: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022283602005612>
67. Panagides N, Zacchi LF, Souza MJD, Morales RAV, Karnowski A, Liddament MT, et al. Evaluation of Phage Display Biopanning Strategies for the Selection of Anti-Cell Surface Receptor Antibodies. *International Journal of Molecular Sciences* [Internet]. 30 juill 2022 [cité 8 nov 2024];23(15):8470. Disponible sur: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC9369378/>
68. Frenzel A, Schirrmann T, Hust M. Phage display-derived human antibodies in clinical development and therapy. *mAbs* [Internet]. 14 juill 2016 [cité 8 nov 2024];8(7):1177. Disponible sur: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC5058633/>
69. Ma J, Mo Y, Tang M, Shen J, Qi Y, Zhao W, et al. Bispecific Antibodies: From Research to Clinical Application. *Front Immunol* [Internet]. 5 mai 2021 [cité 8 nov 2024];12:626616. Disponible sur: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2021.626616/full>
70. Zhu WM, Middleton MR. Combination therapies for the optimisation of Bispecific T-cell Engagers in cancer treatment. *Immunotherapy Advances* [Internet]. 10 août 2023 [cité 8 nov 2024];3(1):ltad013. Disponible sur: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC10439528/>
71. Research C for DE and. Bispecific Antibodies: An Area of Research and Clinical Applications. FDA [Internet]. 3 déc 2024 [cité 8 nov 2024]; Disponible sur: <https://www.fda.gov/drugs/spotlight-cder-science/bispecific-antibodies-area-research-and-clinical-applications>
72. Yang X mei, Lin X dong, Shi W, Xie S xia, Huang X ning, Yin S hua, et al. Nanobody-based bispecific T-cell engager (Nb-BiTE): a new platform for enhanced T-cell immunotherapy. *Sig Transduct Target Ther* [Internet]. 4 sept 2023 [cité 8 nov 2024];8(1):1-4. Disponible sur: <https://www.nature.com/articles/s41392-023-01523-3>
73. positadmin. SIRIC ILIAD. 2022 [cité 12 nov 2024]. Immunothérapie dans le myélome multiple: focus sur les anticorps bispécifiques. Disponible sur: <https://www.siric-iliad.com/immunotherapie-dans-le-myelome-multiple-focus-sur-les-anticorps-bispecifiques/>
74. Felices M, Lenvik TR, Davis ZB, Miller JS, Vallera DA. Generation of BiKEs and TriKEs to improve NK cell-mediated targeting of tumor cells. *Methods in molecular biology (Clifton, NJ)* [Internet]. 2016 [cité 8 nov 2024];1441:333. Disponible sur: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC5823010/>
75. Types of monoclonal antibodies - evitria [Internet]. 2022 [cité 8 nov 2024]. Disponible sur: <https://www.evitria.com/journal/monoclonal-antibodies/types-monoclonal-antibodies/>
76. PhD AH. Antibody-Drug Conjugates (ADCs): Concepts and Challenges [Internet]. [cité 12 nov 2024]. Disponible sur: <https://blog.crownbio.com/antibody-drug-conjugates-concepts-and-challenges>

77. Bootz F, Neri D. Immunocytokines: a novel class of products for the treatment of chronic inflammation and autoimmune conditions. Drug discovery today [Internet]. 23 oct 2015 [cité 8 nov 2024];21(1):180. Disponible sur: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC5144993/>
78. International Myeloma Foundation [Internet]. [cité 8 nov 2024]. Immunocytokine Therapy. Disponible sur: <https://www.myeloma.org/emerging-therapies/immunocytokine-therapy>
79. Siwe GT, Fajemisin EA, Mugeru M, Naran K, Barth S. Revisiting immunotherapeutic strategies for the management of atopic dermatitis. Explor Asthma Allergy [Internet]. 9 août 2024 [cité 12 nov 2024];2(5):373-98. Disponible sur: <https://www.explorationpub.com/Journals/eaa/Article/100952>
80. Inserm [Internet]. [cité 13 nov 2024]. Alain Fischer · Inserm, La science pour la santé. Disponible sur: <https://www.inserm.fr/portrait/histoire/alain-fischer/>
81. @NatGeoFrance. National Geographic. 2022 [cité 14 nov 2024]. La transplantation mitochondriale pourrait révolutionner la médecine. Disponible sur: <https://www.nationalgeographic.fr/sciences/la-transplantation-mitochondriale-pourrait-revolutionner-la-medecine>
82. Friedmann T. A brief history of gene therapy. Nat Genet. oct 1992;2(2):93-8.
83. Bensimon C. Libération. [cité 14 nov 2024]. Coup d'arrêt à la thérapie génique aux Etats-Unis. Le décès d'un jeune homme révèle les risques encourus par les patients. Disponible sur: [https://www.liberation.fr/societe/2000/02/10/coup-d-arret-a-la-therapie-genique-aux-etats-unis-le-deces-d-un-jeune-homme-revele-les-risques-encou\\_316045/](https://www.liberation.fr/societe/2000/02/10/coup-d-arret-a-la-therapie-genique-aux-etats-unis-le-deces-d-un-jeune-homme-revele-les-risques-encou_316045/)
84. La thérapie génique [Internet]. [cité 14 nov 2024]. Disponible sur: <https://www.leem.org/la-therapie-genique>
85. Rossi A, Salvetti A. Intégration des vecteurs AAV et mutagenèse insertionnelle. Med Sci (Paris) [Internet]. 1 févr 2016 [cité 14 nov 2024];32(2):167-74. Disponible sur: <https://www.medecinesciences.org/articles/medsci/abs/2016/02/medsci20163202p167/medsci20163202p167.html>
86. Inserm [Internet]. [cité 14 nov 2024]. CRISPR-Cas9 : vers un outil plus sûr pour éditer les génomes · Inserm, La science pour la santé. Disponible sur: <https://www.inserm.fr/actualite/crispr-cas9-vers-outil-plus-sur-pour-editer-genomes/>
87. Cara G. Journée Internationale des Maladies Rares 2021 [Internet]. Salle de presse de l'Inserm. 2021 [cité 14 nov 2024]. Disponible sur: <https://presse.inserm.fr/journee-internationale-des-maladies-rares-2021/42244/>
88. IRDiRC: 1000 new rare diseases treatments by 2027, identifying and bringing forward strategic actions [Internet]. [cité 14 nov 2024]. Disponible sur: <https://www.oaepublish.com/articles/rdodj.2021.02>
89. L'histoire du cancer - la thérapie cellulaire T CAR | Fisher Scientific [Internet]. [cité 14 nov 2024]. Disponible sur: <https://www.fishersci.fr/fr/fr/scientific-products/publications/lab-reporter/2022/issue-4/car-t-cell-therapy.html>
90. Cytotoxic T-Cell - an overview | ScienceDirect Topics [Internet]. [cité 15 nov 2024]. Disponible sur: <https://www.sciencedirect.com/topics/medicine-and-dentistry/cytotoxic-t-cell>

91. CD3. In: Wikipédia [Internet]. 2023 [cité 15 nov 2024]. Disponible sur: <https://fr.wikipedia.org/w/index.php?title=CD3&oldid=204119089>
92. Hu Y, Cui Q, Luo C, Luo Y, Shi J, Huang H. A promising sword of tomorrow: Human  $\gamma\delta$  T cell strategies reconcile allo-HSCT complications. *Blood Rev.* mai 2016;30(3):179-88.
93. Prommersberger S, Reiser M, Beckmann J, Danhof S, Amberger M, Quade-Lyssy P, et al. CARAMBA: a first-in-human clinical trial with SLAMF7 CAR-T cells prepared by virus-free Sleeping Beauty gene transfer to treat multiple myeloma. *Gene Ther* [Internet]. sept 2021 [cité 15 nov 2024];28(9):560-71. Disponible sur: <https://www.nature.com/articles/s41434-021-00254-w>
94. Hirabayashi K, Du H, Xu Y, Shou P, Zhou X, Fucá G, et al. Dual-targeting CAR-T cells with optimal co-stimulation and metabolic fitness enhance antitumor activity and prevent escape in solid tumors. *Nat Cancer* [Internet]. sept 2021 [cité 22 nov 2024];2(9):904-18. Disponible sur: <https://www.nature.com/articles/s43018-021-00244-2>
95. Liu Z, Ren Y, Weng S, Xu H, Li L, Han X. A New Trend in Cancer Treatment: The Combination of Epigenetics and Immunotherapy. *Frontiers in Immunology* [Internet]. 24 janv 2022 [cité 22 nov 2024];13:809761. Disponible sur: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC8818678/>
96. Stylianopoulos T, Munn LL, Jain RK. Reengineering the Tumor Vasculature: Improving Drug Delivery and Efficacy. *Trends in Cancer* [Internet]. 1 avr 2018 [cité 22 nov 2024];4(4):258-9. Disponible sur: [https://www.cell.com/trends/cancer/abstract/S2405-8033\(18\)30057-8](https://www.cell.com/trends/cancer/abstract/S2405-8033(18)30057-8)
97. Challenges for CAR T-cell Immunotherapy in Solid Tumors | BioRender Science Templates [Internet]. [cité 21 nov 2024]. Disponible sur: <https://www.biorender.com/template/challenges-for-car-t-cell-immunotherapy-in-solid-tumors>
98. Benjamin R, Jain N, Maus MV, Boissel N, Graham C, Jozwik A, et al. UCART19, a first-in-class allogeneic anti-CD19 chimeric antigen receptor T-cell therapy for adults with relapsed or refractory B-cell acute lymphoblastic leukaemia (CALM): a phase 1, dose-escalation trial. *The Lancet Haematology* [Internet]. 1 nov 2022 [cité 21 nov 2024];9(11):e833-43. Disponible sur: [https://www.thelancet.com/journals/lanhae/article/PIIS2352-3026\(22\)00245-9/abstract](https://www.thelancet.com/journals/lanhae/article/PIIS2352-3026(22)00245-9/abstract)
99. France Biotech - Les entrepreneurs de la HealthTech [Internet]. [cité 26 janv 2024]. Disponible sur: <https://france-biotech.fr/>
100. Beaume A, Charrin B, Romeo K. Les biotechnologies de santé en France. 2014;
101. calameo.com [Internet]. [cité 7 mars 2024]. Panorama France Healthtech 2023. Disponible sur: <https://www.calameo.com/read/006597052856726581f98>
102. calameo.com [Internet]. [cité 26 janv 2024]. PANORAMA FRANCE HEALTHTECH 2022. Disponible sur: <https://www.calameo.com/read/0065970528b14cb953109>
103. gouvernement.fr [Internet]. [cité 6 févr 2024]. France 2030. Disponible sur: <https://www.gouvernement.fr/france-2030>

104. bpi auteur. Bpifrance | Presse. 2022 [cité 6 févr 2024]. L'Etat, Bpifrance et la filière Industries et Technologies de Santé s'allient pour lancer la première promotion de l'Accélérateur Industries et Technologies de Santé. Disponible sur: <https://presse.bpifrance.fr/letat-bpifrance-et-la-filiere-industries-et-technologies-de-sante-sallient-pour-lancer-la-premiere-promotion-de-lacceleateur-industries-et-technologies-de-sante/>
105. gouvernement.fr [Internet]. [cité 7 mars 2024]. Agence de l'innovation en santé. Disponible sur: <https://www.gouvernement.fr/organisation/secretariat-general-pour-l-investissement-sgpi/agence-innovation-sante>
106. Parcours du médicament [Internet]. [cité 6 févr 2024]. Disponible sur: <https://www.leem.org/100-questions/parcours-du-medicament>
107. Article L5111-1 - Code de la santé publique - Légifrance [Internet]. [cité 7 févr 2024]. Disponible sur: [https://www.legifrance.gouv.fr/codes/article\\_lc/LEGIARTI000045404922](https://www.legifrance.gouv.fr/codes/article_lc/LEGIARTI000045404922)
108. Article L5121-1 - Code de la santé publique - Légifrance [Internet]. [cité 7 févr 2024]. Disponible sur: [https://www.legifrance.gouv.fr/codes/article\\_lc/LEGIARTI000044628485](https://www.legifrance.gouv.fr/codes/article_lc/LEGIARTI000044628485)
109. Législation de l'UE - EUR-Lex [Internet]. [cité 7 févr 2024]. Disponible sur: <https://eur-lex.europa.eu/homepage.html?locale=fr>
110. Portal [Internet]. [cité 7 févr 2024]. The Council of Europe: guardian of Human Rights, Democracy and the Rule of Law for 700 million citizens - Portal - www.coe.int. Disponible sur: <https://www.coe.int/en/web/portal>
111. Journal officiel n° L 189 du 20/07/1990 p. 0017 - 0036; édition spéciale finnoise: chapitre 13 tome 19 p. 0192; édition spéciale suédoise: chapitre 13 tome 19 p. 0192; [Internet]. OPOCE; [cité 7 févr 2024]. EUR-Lex - 31990L0385 - FR. Disponible sur: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/FR/TXT/HTML/?uri=CELEX%3A31990L0385>
112. Procedural timetables | European Medicines Agency [Internet]. [cité 21 févr 2024]. Disponible sur: <https://www.ema.europa.eu/en/human-regulatory-overview/marketing-authorisation/submission-dates/procedural-timetables>
113. Obtaining an EU marketing authorisation, step-by-step | European Medicines Agency [Internet]. [cité 21 févr 2024]. Disponible sur: <https://www.ema.europa.eu/en/human-regulatory-overview/marketing-authorisation/obtaining-eu-marketing-authorisation-step-step>
114. From lab to patient - Timeline | European Medicines Agency [Internet]. [cité 21 févr 2024]. Disponible sur: <https://www.ema.europa.eu/en/from-lab-to-patient-timeline#evaluation>
115. Fast track routes for medicines that address unmet medical needs | European Medicines Agency [Internet]. [cité 22 févr 2024]. Disponible sur: <https://www.ema.europa.eu/en/news/fast-track-routes-medicines-address-unmet-medical-needs>
116. Règlement (CE) n° 507/2006 de la Commission du 29 mars 2006 relatif à l'autorisation de mise sur le marché conditionnelle de médicaments à usage humain relevant du règlement (CE) n° 726/2004 du Parlement européen et du Conseil (Texte présentant de l'intérêt pour l'EEE) [Internet]. OJ L mars 29, 2006. Disponible sur: <http://data.europa.eu/eli/reg/2006/507/oj/fra>

117. European Commission - European Commission [Internet]. [cité 22 févr 2024]. Questions-réponses: Autorisation de mise sur le marché conditionnelle de vaccins contre la COVID-19. Disponible sur: [https://ec.europa.eu/commission/presscorner/detail/fr/qanda\\_20\\_2390](https://ec.europa.eu/commission/presscorner/detail/fr/qanda_20_2390)
118. Conditional marketing authorisation | European Medicines Agency [Internet]. [cité 22 févr 2024]. Disponible sur: <https://www.ema.europa.eu/en/human-regulatory-overview/marketing-authorisation/conditional-marketing-authorisation>
119. Pre-authorisation guidance | European Medicines Agency [Internet]. [cité 1 mars 2024]. Disponible sur: <https://www.ema.europa.eu/en/human-regulatory-overview/marketing-authorisation/pre-authorisation-guidance>
120. Directive 2001/83/CE du Parlement européen et du Conseil du 6 novembre 2001 instituant un code communautaire relatif aux médicaments à usage humain [Internet]. OJ L nov 6, 2001. Disponible sur: <http://data.europa.eu/eli/dir/2001/83/oj/fra>
121. PRIME: priority medicines | European Medicines Agency [Internet]. [cité 2 mars 2024]. Disponible sur: <https://www.ema.europa.eu/en/human-regulatory-overview/research-development/prime-priority-medicines>
122. VIDAL [Internet]. [cité 6 mars 2024]. Prescription et délivrance des médicaments : autorisation temporaire d'utilisation (atu) - archives. Disponible sur: <https://www.vidal.fr/infos-pratiques/prescription-et-delivrance-des-medicaments-autorisation-temporaire-d-utilisation-atu-archives-id14188.html>
123. de Launet Q, Brouard A, Doreau C. Les autorisations temporaires d'utilisation (ATU) : 50 ans d'histoire de l'évolution de la réglementation des médicaments en France. Revue d'Histoire de la Pharmacie [Internet]. 2004 [cité 6 mars 2024];92(341):47-54. Disponible sur: [https://www.persee.fr/doc/pharm\\_0035-2349\\_2004\\_num\\_92\\_341\\_5596](https://www.persee.fr/doc/pharm_0035-2349_2004_num_92_341_5596)
124. Paragraphe 2 ter : Autorisation temporaire d'utilisation (Articles R5142-20 à R5142-30) - Légifrance [Internet]. [cité 6 mars 2024]. Disponible sur: <https://www.legifrance.gouv.fr/codes/id/LEGIARTI000006800337/1994-07-10>
125. Directive 2001/83/CE du Parlement européen et du Conseil du 6 novembre 2001 instituant un code communautaire relatif aux médicaments à usage humain - Légifrance [Internet]. [cité 6 mars 2024]. Disponible sur: <https://www.legifrance.gouv.fr/jorf/id/JORFTEXT000000518889>
126. RÈGLEMENT (CE) No 726/2004 DU PARLEMENT EUROPÉEN ET DU CONSEIL du 31 mars 2004 [Internet]. [cité 6 mars 2024]. Disponible sur: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/FR/TXT/HTML/?uri=CELEX%3A02004R0726-20220128>
127. Décret n° 2021-869 du 30 juin 2021 relatif aux autorisations d'accès précoce et compassionnel de certains médicaments. 2021-869 juin 30, 2021.
128. ANSM [Internet]. [cité 6 mars 2024]. Actualité - Réforme de l'accès dérogatoire aux médicaments : renforcer l'accès aux traitements innovants pour les patients en impasse thérapeutique. Disponible sur: <https://ansm.sante.fr/actualites/reforme-de-lacces-derogatoire-aux-medicaments-renforcer-lacces-aux-traitements-innovants-pour-les-patients-en-impasse-therapeutique>

129. Médicaments en accès précoce – accès compassionnel | OMEDIT Nouvelle-Aquitaine Guadeloupe [Internet]. [cité 20 mars 2024]. Disponible sur: <https://www.omedit-nag.fr/medicaments-en-acces-precoce-acces-compassionnel>
130. Open Medic : bases complémentaires sur les dépenses de médicaments - 2014 à 2023 | L'Assurance Maladie [Internet]. 2024 [cité 9 oct 2024]. Disponible sur: <https://www.assurance-maladie.ameli.fr/etudes-et-donnees/open-medic-depenses-beneficiaires-medicaments>

## Serment De Galien

---

Je jure en présence de mes Maîtres de la Faculté et de mes condisciples :

- d'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement ;
- d'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement ;
- de ne jamais oublier ma responsabilité, mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine, de respecter le secret professionnel.

En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser les actes criminels.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères, si j'y manque.

## **Médicaments issus de biotechnologie : état des lieux réglementaires, économiques et technologiques dans le contexte français**

---

Cette thèse explore le domaine des médicaments issus des biotechnologies, en se concentrant sur leur développement, leur réglementation et leur impact sur le marché pharmaceutique en France. L'étude commence par un aperçu des fondements de la biotechnologie, incluant ses définitions historiques et les concepts scientifiques clés. Elle examine ensuite l'état actuel du marché des biomédicaments en France, les politiques publiques associées, et les processus d'autorisation de mise sur le marché. Une attention particulière est portée aux médicaments à base de protéines recombinantes, aux anticorps monoclonaux, ainsi qu'aux thérapies cellulaires et géniques, notamment les CAR-T. La thèse analyse les défis et les opportunités liés à ces technologies innovantes, leur production, leurs mécanismes d'action, et leur potentiel thérapeutique. Elle conclut en soulignant l'importance croissante des biotechnologies dans l'industrie pharmaceutique et leurs implications pour l'avenir des soins de santé.

---

Mots-clés : biotechnologie, biomédicaments, protéines recombinantes, anticorps monoclonaux, thérapie génique, thérapie cellulaire, CAR-T, autorisation de mise sur le marché, industrie pharmaceutique, innovation thérapeutique

## **Biotechnology-derived medicinal products: the state of play in terms of regulations, economics and technology in the French context**

---

This thesis explores the field of biotechnology-derived medicines, focusing on their development, regulation, and impact on the pharmaceutical market in France. The study begins with an overview of the foundations of biotechnology, including its historical definitions and key scientific concepts. It then examines the current state of the biomedical market in France, associated public policies, and marketing authorization processes. Particular attention is given to recombinant protein-based drugs, monoclonal antibodies, as well as cell and gene therapies, notably CAR-T. The thesis analyzes the challenges and opportunities related to these innovative technologies, their production, mechanisms of action, and therapeutic potential. It concludes by highlighting the growing importance of biotechnologies in the pharmaceutical industry and their implications for the future of healthcare.

---

Keywords : biotechnology, biopharmaceuticals, recombinant proteins, monoclonal antibodies, gene therapy, cell therapy, CAR-T, marketing authorization, pharmaceutical industry, therapeutic innovation

