



## **Remerciements**

*Avant tout, nous remercions ALLAH le tout puissant de nous avoir guidé et donné la force, la patience et le courage tout le long de travail.*

*Nous adressons nos sincères remerciements à notre promoteur Mr **NOUASRI Ahmed** et à notre Co-promotrice Mme **MELLAL Ghania** qui ont mis toute leurs compétences et l'effort à notre disposition et pour leurs conseils précieux pour l'élaboration de ce modeste travail.*

*Nous remercions également Mme **.Ben Yami Roukia** pour sa patience, sa disponibilité et surtout son aide dans la réalisation de ce mémoire.*

*Nous exprimons notre gratitude aux membres du jury :*

*Mr le président : Dr Halet Farid*

*Et Mme Boukercha Aziza (l'examinatrice)*

*Qui nous ont fait*

*L'honneur d'examiner ce travail à sa juste valeur.*

*Nous exprimons notre gratitude aussi à l'**Ecole Normale Supérieure D'enseignement**. Particulièrement le **département des sciences naturelles***

*Qui nous a ouvert les portes pour faire ce travail.*

*Nous remercions tous **nos enseignants de la faculté des sciences** qui nous ont enrichis de connaissances, particulièrement **Mme DAHLOUK Mr. BEN ABDELKADER et Mr. MESSAOUDENE.***

*Nous remercions nos familles et nos chers amis et tous qui nous ont encouragée de près ou de loin, pour que ce travail puis voir le jour.*

## ***Dédicace***

*Tout d'abord, je voudrais remercier **Dieu** de m'avoir donné le courage et la volonté de relever les défis de la vie.*

*A mes très chers parents*

*, **Mr AZIZI NAAMANE ET MME .BOUCHEBOURA TOURIA...***

*Nul mot puisse exprimer mes sincères sentiments, pour votre patience, vos encouragements, votre aide, en témoignage de reconnaissance, de votre profond amour et respect, pour vos grands sacrifices...*

*Je vous promets de démarrer un autre travaille et succès à votre nom...*

*J'espère que vous serez toujours fiers de moi...*

*À mon 2eme pilier*

*Mon cher frère "**TSLAM**" qui était toujours avec moi...*

*Mercie pour ton encouragement et ton soutien*

*Que dieux te gardent*

*À ceux qui m'ont donné la joie et le bonheur, à mes très chères :*

*Ma sœur "**MANEL**" ET le petit frère "**YACINE**" Tous les mots ne suffisent*

*guère pour exprimer mon attachement et mon amour pour vous.*

*À mes amies : "**LINA** ", "**CHAHINEZ** ", "**HANAN** ", "**YOUSRA** ", "**HANNA** "*

*et pleins d'autres amis sons même les citer.*

*À ma chère amie : "**ZIANI IMEN INES** "avec qui j'ai partagé des bon et mauvais moments durant cette épreuve.*

*A tous mes collègues enseignants(tes), que Dieu vous bénisse dans votre travail*

*En enfin spéciale dédicace*

***A MOI "AMANI AZIZI "***

*Félicitations pour toutes les réalisations que vous avez accomplies*

*Cherchez toujours plus*

*Plus de succès in sha Allah*

**AMANI AZIZI**

## **Dédicace**

*Avant tout, je tiens à remercier Allah, qui m'offre le courage et la volonté  
pour affronter les différentes de la vie.*

*Je dédie ce modeste travail à **tous ceux qui tiennent une place dans mon cœur :***

*A ma très chère mère Mme. **ZEFFANE Z.** ; Aucune dédicace ne saurait être à la  
hauteur pour exprimer ce que tu mérites pour tous les sacrifices que tu n'as cessé  
de faire depuis ma naissance, durant mon enfance et même à l'âge adulte. Affable  
et aimable, tu représentes pour moi le symbole de bonté et de générosité par excellence.*

*Que ce modeste travail soit l'exaucement de tes vœux tant formulés et le fruit de tes  
innombrables sacrifices. Puisse Dieu, te protéger et t'accorder santé et longue vie.*

*A mon très cher père **ZIANI M.** ; Aucune dédicace ne saurait exprimer tout l'amour,  
le respect et l'admiration que j'ai toujours éprouvés pour toi.*

*A ma très chère sœur **Rym Nesrine** ; Celle qui m'a donné la joie et le bonheur tous  
les mots ne suffisent guère pour exprimer mon attachement et mon amour pour toi.*

*A mon très cher petit frère **Nazim Zineeddine** Tu es et tu resteras toujours à mes yeux  
une source inépuisable d'altruisme, de bienveillance, et surtout d'humanité Reste  
comme tu es et ne change surtout pas. Je t'aime.*

*A mes très chers amis **BADJI K.** et **BENMAKHOLOUF D.** pour leurs encouragements  
permanents et leurs soutiens.*

*A la personne la plus précieuse la plus proche quel que soit la distance qui nous sépare.  
A tous ceux qui ont contribué de près ou de loin pour que ce projet soit possible,  
je vous remercie.*

*À toute **ma famille**, toutes **mes amies** et **collègues** et tous ceux qui me sont chers.*

**ZIANI Imen Ines**

## Sommaire

Liste Des Abréviations

Glossaire

Liste des Figures

Liste Des Tableaux

INTRODUCTION GENERAL .....	1
Introduction .....	1
But et objectifs de la recherche .....	1
Méthodologie .....	1
CHAPITRE 1 Généralités sur l'agriculture moléculaire .....	2
1. Préambule –De la biotechnologie a l'agriculture moléculaire- .....	2
1.1. Définition de la biotechnologie .....	2
1.2. Innovation biotechnologiques marquantes .....	2
1.3. Principales applications de la biotechnologie .....	3
1.3.1. Biotechnologie rouge .....	4
2. Définition de l'agriculture moléculaire végétale .....	5
2.1. Définition adoptée par l'ACIA.....	5
3. Classification des molécules obtenues par l'agriculture moléculaire végétale selon la complexité.....	6
4. Principe de l'agriculture moléculaire végétale.....	6
5. Objectif de l'agriculture moléculaire .....	6
6. <i>Historique de l'agriculture moléculaire</i> .....	7
6.1. Naissance.....	7
6.2. Première phase .....	7
6.3. Deuxième phase .....	8
7. Règlementation de l'agriculture moléculaire .....	8
8. Principaux compagnies de moléculteur dans le monde.....	9
9. Rentabilité de l'agriculture moléculaire .....	10
9.1. Raisons d'augmentation des coûts .....	11
10. Avantages de l'agriculture moléculaire.....	11
10.1. Vaccins comestibles .....	12
11. Risques soulevés par l'agriculture moléculaire.....	12
11.1. Potentiel allergène .....	13

# Sommaire

---

11.2. Contamination de la chaîne alimentaire .....	13
11.3. Risque d'exposition involontaire .....	13
11.4. Risque de propagation du transgène.....	13
11.5. Perte des caractéristiques des plantes mises en culture .....	13
11.6. Consommateurs face à l'agriculture moléculaire.....	14
12. Défis de l'agriculture moléculaire .....	14
<b>CHAPITRE 2 Les plantes comme des bio-industries.....</b>	<b>16</b>
Les plantes comme système d'expression .....	16
2. Comparaison entre les différents systèmes d'expression .....	16
3. Effet des plantes utilisées pour l'agriculture moléculaire sur la santé humaine .....	17
4. Principales plantes utilisées en agriculture moléculaire.....	18
5. Meilleure plante à utiliser en agriculture moléculaire.....	20
5.1. Cultures feuillues.....	20
5.2. Céréales .....	21
5.3. Les légumes et les fruits .....	21
5.4. Autre.....	22
6. Stratégie.....	22
6.1. Méthodes d'expressions dans les plantes .....	23
6.2. Méthodes de transformation du gène .....	24
7. Modifications post-traductionnelles chez les plantes .....	27
7.1. Glycosylation .....	27
7.2. Acétylation .....	28
7.3. Acylation .....	28
7.4. Phosphorylation.....	28
8. Traitement en aval.....	29
8.1. Extraction .....	29
8.2. Précautions à prendre lors de la préparation des protéines purifiées.....	29
8.3. Purification.....	30
9. Analyse quantitative et qualitative de la purification .....	35
<b>Chapitre 3 Les molécules d'intérêt pharmaceutique au sein de l'agriculture moléculaire</b>	<b>36</b>
1. Les protéines recombinantes au sein de l'agriculture moléculaire.....	37
2. Protéines à usage pharmaceutiques .....	38
3. Classification des protéines recombinantes au sein de l'agriculture moléculaire .....	38
3.1. Anticorps .....	39
3.3. Vaccins .....	46
3.4. Protéines industrielles .....	49

# Sommaire

---

3.5. Autres protéines d'intérêt médical .....	53
4. Produits sur le marché .....	54
4.1. b-Glucuronidase(Gus) : .....	54
4.2. Avidin : .....	55
4.3. Trypsin : .....	56
5. Produits proches du marché .....	57
Conclusion général.....	61
Annexe .....	62
Les références bibliographie .....	67
Résumé.....	73

## Liste des abréviations

---

### Liste des abréviations

<b>Abréviation</b>	<b>Signification</b>	<b>page</b>
<b>E.COLI</b>	<i>Escherichia coli</i>	3
<b>SCDI</b>	Immunodéficiences combinées sévères	4
<b>l'ACIA</b>	Agence canadienne d'inspection des aliments	6
<b>ADN</b>	acide désoxyribonucléique	7
<b>l'USDA</b>	Département de l'Agriculture des États-Unis	8
<b>l'APHIS</b>	Département de l'Agriculture des États-Unis	9
<b>CGG</b>	la Commission du génie génétique	9
<b>CGB</b>	la Commission du génie biomoléculaire	9
<b>OGM</b>	Organisme génétiquement modifié	9
<b>EMEA</b>	L'Agence du médicament humain	10
<b>HCMV</b>	le cytomégalovirus humain	13
<b>GLP -1</b>	Glucagon-like Peptide-2	14
<b>PGM</b>	plantes génétiquement modifiées	15
<b>VIH</b>	Virus de l'immunodéficiences humaine	19
<b>rAB</b>	Anticorps recombinants	20
<b>ARN</b>	Acide ribonucléique	23
<b>GUS</b>	$\beta$ -glucuronidase	27- 59
<b>TNF-a</b>	facteur de nécrose tumorale	28
<b>PTM</b>	modification post traditionnelle	29
<b>AC</b>	Anticorps	32
<b>PH</b>	Le potentiel hydrogène	34

## Liste des abréviations

---

<b>Abréviation</b>	<b>Signification</b>	<b>page</b>
<b>SDS</b>	Dodécyl sulfate de sodium	36
<b>PAGE</b>	GEL Poly Acrylamide	36
<b>βME</b>	le bêta-mercaptoéthanol	36
<b>VHB</b>	virus de l'hépatite B	19- 40
<b>FV</b>	les fragments d'anticorps	42
<b>IgA, IgG, IgM, IgA</b>	Différent formes d'anticorps	42
<b>ACM</b>	Les anticorps monoclonaux	46
<b>PPV</b>	particules pseudo-virales	51
<b>SIR</b>	la réponse inflammatoire systémique	62
<b>ESB</b>	l'encéphalopathie spongiforme bovine	62

# Glossaire

---

## Glossaire

<b>TERMES EMPLOYER</b>	<b>La définition</b>
<b>Adaptateur</b>	Courte séquence nucléotidique capable de réaliser le pontage entre deux fragments d'ADN terminés par des séquences non complémentaires.
<b>ADN</b>	Acide désoxyribonucléique. C'est le support du matériel de l'hérédité à l'exception de certains virus à ARN.
<b>ADNc ou complémentaire</b>	C'est une copie d'ARN obtenu par transcription reverse. Cellule hôte : cellule hébergeant un matériel génétique étranger apporté par un vecteur.
<b>ADN recombinant</b>	L'ADN recombinant provient d'une combinaison entre l'ADN d'un organisme donneur et celui d'un vecteur (qui peut être d'une espèce totalement différente).
<b>Biopharmacie</b>	Est la production et l'utilisation de plantes et des animaux transgénique génétiquement modifiés pour produire des substances pharmaceutiques destinées à être utilisées chez les humains ou les animaux .
<b>Cellule hôte</b>	cellule hébergeant un matériel génétique étranger apporté par un vecteur
<b>Clonage</b>	Manipulation génétique permet d'isoler des fragments d'acides nucléiques de leur organismes d'origine et de les propager dans un organisme hôte qui peut être le même que l'organisme original ou un organisme différent. La capacité de cloner l'ADN ouvre la voie à de nombreuses applications (isolement, amplification, séquençage, expression ;ect....)
<b>Clonage moléculaire</b>	Isolement et incorporation d'un fragment d'ADN dans un vecteur pouvant le répliquer.
<b>Criblage</b>	Opération d'identification et de tri de clones recombinants.
<b>Moléculaire</b>	Production des composés pharmaceutiques chez les végétaux

## Liste des figures

---

### Liste des figures

<b>Numéro de la figure</b>	<b>Titre de figure</b>	<b>page</b>
<b>01</b>	<b>Méthode de transformation de cellules végétales par agroinfection en vue d'une expression stable</b>	<b>25</b>
<b>02</b>	<b>Méthode de transformation de cellules végétales par bombardement particulaire en vue d'une expression stable ou transitoire</b>	<b>26</b>
<b>03</b>	<b>les précautions à prendre lors de la préparation des protéines purifiées</b>	<b>29</b>
<b>04</b>	<b>les Principales techniques de séparation et caractérisation des protéines</b>	<b>31</b>
<b>05</b>	<b>les méthodes de séparations des protéines selon leur taille</b>	<b>31</b>
<b>06</b>	<b>la chromatographie d'exclusion</b>	<b>32</b>
<b>07</b>	<b>les principes de l'électrophorèse SDS-Page</b>	<b>33</b>
<b>08</b>	<b>chromatographie d'échange d'ions</b>	<b>34</b>
<b>09</b>	<b>Les applications de l'Agriculture moléculaire</b>	<b>36</b>
<b>09</b>	<b>classification des protéines recombinantes au sein de l'agriculture moléculaire</b>	<b>38</b>
<b>10</b>	<b>méthodes de production des anticorps</b>	<b>42</b>
<b>11</b>	<b>les produits sur marché</b>	<b>54</b>
<b>12</b>	<b>les produits proches du marché</b>	<b>67</b>

## Liste des tableaux

---

### Liste des tableaux

<b>Numéro de tableau</b>	<b>Titre de tableau</b>	<b>La page</b>
<b>01</b>	<b>Principales applications de la biotechnologie utilisant le code des couleurs</b>	<b>6</b>
<b>02</b>	<b>Les principales compagnies mondiales de l'agriculture moléculaire à travers le monde</b>	<b>11</b> <b>12</b>
<b>03</b>	<b>Coûts de production des anticorps</b>	<b>45</b>
<b>04</b>	<b>Tableau représente les anticorps recombinants à usage pharmaceutique produites dans les plantes transgéniques</b>	<b>47</b> <b>48</b>
<b>05</b>	<b>Tableau représente les thérapies parentales et les intermédiaires pharmaceutiques produites dans les plantes transgéniques</b>	<b>50</b>
<b>06</b>	<b>Tableau représente le vaccin à usage pharmaceutique produites dans les plantes transgéniques</b>	<b>51</b> <b>52</b>
<b>07</b>	<b>Tableau représente les protéines plasmiques et sanguines à usage pharmaceutique produites dans les plantes transgéniques</b>	<b>53</b> <b>54</b>
<b>08</b>	<b>Tableau représente les facteurs de croissances ; les hormones et les cytokines à usage pharmaceutique produites dans les plantes transgéniques.</b>	<b>55</b>
<b>09</b>	<b>Tableau représente les enzymes à usage pharmaceutique produites dans les plantes transgéniques</b>	<b>56</b>
<b>10</b>	<b>Tableau représente des protéines à usage pharmaceutique produites dans les plantes transgéniques</b>	<b>57</b>
<b>11</b>	<b>Tableau représente des produit sur le marcher à usage pharmaceutique produites dans les plantes transgéniques :</b>	<b>66</b>
<b>12</b>	<b>Tableau représente des produit proche du marcher à usage pharmaceutique produites dans les plantes transgéniques</b>	<b>63</b>

# **INTRODUCTION GENERAL**

## Introduction

Les progrès de la biologie moléculaire et de l'ingénierie des protéines, alliés à la recherche biomédicale, ont abouti à l'identification de molécules d'intérêt pour les applications industrielles et les diagnostics thérapeutiques (Walmsley A.M. et Arntzen C.J, 2000).

La production de ces molécules est soumise à de nombreuses exigences notamment sur la qualité et la quantité. Ce qui impose à l'industrie pharmaceutique un système d'assurance de qualité performant, qui permet de garantir l'efficacité et la sécurité des produits mis sur le marché (Daniell et al, 2000).

De nombreux travaux tendent à démontrer que les plantes peuvent être considérées comme des bioréacteurs, constituant ainsi une alternative intéressante, pour la production à l'échelle industrielle et commerciale de molécules d'intérêt pharmaceutique via l'agriculture moléculaire (Walmsley et Arntzen , 2000).

## But et objectifs de la recherche

L'objectif principal de notre travail est de démontrer la possibilité de produire et de faire le point sur le fort potentiel de production des molécules d'intérêt pharmaceutiques via l'utilisation de l'agriculture moléculaire "molecular farming"

Le présent travail est composé de trois chapitres sont les suivants :

1. Généralités sur l'agriculture moléculaire.
2. Les plantes comme un système d'expression.
3. Les protéines recombinantes au sein de l'agriculture moléculaire.

## Méthodologie

Le présent travail est bibliographique. Il épuise ses sources de références principalement des sites web de l'Internet, des articles de recherche et des thèses des mémorisant de la faculté de la médecine et de la pharmacie.

# **CHAPITRE 1**

## **Généralités sur l'agriculture moléculaire**

# Chapitre 1 Généralité sur l'agriculture moléculaire

---

## 1. Préambule –De la biotechnologie a l'agriculture moléculaire-

La biotechnologie s'occupe de l'application de fondement scientifique et technique à des fins de production de substances biologiques. En principe, tous les processus de fabrication de produits par des organismes vivants ou des enzymes isolés sont regroupés dans cette catégorie générale. Les racines de la biotechnologie remontent à loin. Depuis la nuit des temps, l'homme a su utiliser les aptitudes biologiques des plus petits êtres vivants, comme les bactéries et les champignons, pour fabriquer du pain, du fromage, du yoghourt, du kéfir, du vin ou de la bière. Les premières applications biotechnologiques faites par l'homme étaient sans doute la fabrication de pain et de bière au moyen de levure, il y a de cela quelque 5000 ans. A l'instar d'autres applications, comme le compostage, ces formes de biotechnologie peuvent être qualifiées de conventionnelles. La biotechnologie est le prolongement moderne de ce secteur. Elle est fondée surtout sur les méthodes du génie génétique et de la biologie moléculaire (**Hood et al.2005**).

### 1.1. Définition de la biotechnologie

Parmi les nombreuses définitions proposées pour la biotechnologie nous retiendrons celle qui la considère comme étant des ensemble des méthodes ou techniques utilisant des éléments du vivant (organismes, cellules, éléments subcellulaires ou moléculaires) pour rechercher, produire ou modifier des éléments ou organismes d'origine végétale ou animale (ou non). Donc les biotechnologies concernent des procédures qui peuvent contribuer au développement de nouveaux produits ou de services et des produits déterminés.

(<https://pascalfrancis.inist.fr/vibad/index.php?action=getRecordDetail&idt=9152453>)

### 1.2. Innovation biotechnologiques marquantes

Ci-dessous quelques innovations et productions biotechnologiques ayant utilisé le progrès de la biotechnologie moléculaire (**Dalichaouche. 2019**) :

-1975 - Méthode de production d'anticorps monoclonaux développée par Köhler et César Milstein.

- 1978 - Gilbert (USA) transféra le gène de l'insuline du rat dans le plasmide d'une bactérie (*Escherichia coli*). Le vecteur recombinant fut cloné et le gène de l'insuline s'y

# **Chapitre 1 Généralité sur l'agriculture moléculaire**

---

exprima chez cette bactérie. Cette expérience fut confirmée par Riggs au cours de la même année en utilisant cette fois-ci le gène de l'insuline humaine.

-1982 - Production de l'insuline humaine par des bactéries génétiquement modifiées, technique approuvée par la Food and Drug Administration.

-1986 à 1989 - Production du vaccin de l'hépatite B par des animaux transgéniques ayant incorporés un ADN étranger (transgène).

-1990 - Le premier traitement de thérapie génique approuvé est effectué avec succès chez une jeune fille qui souffrait d'un trouble immunitaire.

- 1999- Le professeur Alain Fisher et ses collaborateurs, obtiennent les premiers succès réels de thérapie génique pour une dizaine d'enfants atteints d'immunodéficiences combinées sévères (SCID) connus sous le nom « enfants bulles ».

## **1.3. Principales applications de la biotechnologie**

Les biotechnologies ouvrent de nombreuses perspectives dans divers domaines de vie. C'est donc un domaine d'activités qui consiste à caractériser et utiliser dans des applications variées qui sont symbolisés par un code de couleurs (Tableau 1) :

# Chapitre 1 Généralité sur l'agriculture moléculaire

**Tableau 1** : Principales applications de la biotechnologie utilisant le code des couleurs ((Dalichaouche, 2019)

Domaines :	Applications :
Biotechnologie rouge / Medecine	-Production de vaccins et d'antibiotiques. -Techniques de diagnostics moléculaires. -Industrie pharmaceutique et cosmétique.
Biotechnologie verte / Agriculture	-Production de variétés végétales modifiées. -Production de races animales modifiées. -Production de biofertilisants. -Agroalimentaire.
Biotechnologie jaune / Environnement	-Entretien de la biodiversité. -Dépollution.
Biotechnologie blanche / Industrie	-Procédés industriels (conception et production de nouveaux matériaux à usage quotidien comme les matières plastiques textiles ...) non polluants. -Développement de nouvelles sources d'énergie durables comme les biocarburants.
Biotechnologie bleue / Mer	-Exploitation des ressources maritimes pour créer de nouveaux produits. -Production de biomatériaux et agents pharmacologiques régénératifs.

## 1.3.1. Biotechnologie rouge

Les « biotechnologies rouges », est fréquemment associées aux thèmes liées à la médecine, la sante humaines ainsi que la médecine vétérinaire, cosmétologie, diagnostic, nouveaux procédés thérapeutiques moléculaires ou cellulaires.

Parmi les applications de la biotechnologie rouge on trouve (Dalichaouche, 2019)

- la production des vaccins et des antibiotiques.
- Développement de nouveaux médicaments.
- Diagnostic moléculaire.
- Thérapies génétique.

## **Chapitre 1 Généralité sur l'agriculture moléculaire**

---

Traditionnellement, les protéines d'intérêt biomédical ou bio-industrie étaient extraites directement des organismes qui les synthétisent, mais devant une demande croissante et sans cesse, il a fallu développer de nouvelles sources de production de ces molécules. Avec l'avènement du génie génétique, qui permet d'introduire et d'exprimer un gène étranger (ou transgène) dans un organisme hôte, la synthèse de protéines recombinantes dans des systèmes (ou organismes) hétérologues est désormais possible (**Badri, 2006**).

Parmi les organismes utilisés, on retrouve les levures, les champignons, les bactéries, les cellules animales et les cellules végétales, des nouvelles usines vont pouvoir produire des molécules et ça ce que l'on appelle l'Agriculture moléculaire ou bien la moléculture (Moléculaire Pharming en anglais) (**Freyssinet, 2004**).

### **2. Définition de l'agriculture moléculaire végétale**

L'agriculture moléculaire végétale ou la « moléculture » (Molecular Farming en anglais, voire Pharming quand il s'agit de molécules thérapeutiques) est la culture de plantes à fin de produire des composés pharmaceutiques ou industriels (**Freyssinet, 2004**). Ces utilisations possibles vont de la fabrication de produits médicaux, tels que des produits pharmaceutiques (médicaments) ou des vaccins, à celle de produits comme du plastique biodégradable ou des produits chimiques industriels.

**<https://inspection.canada.ca/varietes-vegetales/vegetaux-a-caracteres-nouveaux/grand-public/mv/fra/1337444001505/1337444120102>**.

#### **2.1. Définition adoptée par l'ACIA**

L'agriculture moléculaire végétale est : « L'utilisation de végétaux en agriculture pour produire des biomolécules au lieu d'aliments et de fibres textiles. Des plantes auxquelles on a conféré des caractères nouveaux pour leur faire produire des biomolécules d'intérêt sur les plans scientifique, médical ou industriel sont cultivées et récoltées dans le but d'isoler ces biomolécules »

**(<https://inspection.canada.ca/varietes-vegetales/vegetaux-a-caracteres-nouveaux/grand-public/mv/fra/1337444001505/1337444120102>)**

### 3. Classification des molécules obtenues par l'agriculture moléculaire végétale selon la complexité

Plusieurs substances peuvent être obtenues des plantes génétiquement modifiées destinées à l'agriculture moléculaire végétale (**Fischer, Johannes et Buye, 2020**) :

- **Produits primaires** : Anticorps, fragments d'anticorps, enzymes (industrielles, thérapeutiques, diagnostiques, cosmétiques), protéines structurales, antigènes (vaccins), agents thérapeutiques, médicaments, inhibiteurs enzymatiques.
- **Produits dérivés** : Bioplastiques, vitamines, cofacteurs, nutraceutiques, métabolites secondaires (composés phénoliques, glucosinolates tannins, amidons, sucres, parfums, arômes, alcaloïdes), fibres.

### 4. Principe de l'agriculture moléculaire végétale

L'agriculture moléculaire végétale consiste à insérer des gènes qui encodent des protéines de grande valeur dans les cellules des plantes. En effet, après avoir identifié une protéine spécifique et bien compris sa fonction, les scientifiques insèrent de l'ADN (acide désoxyribonucléique, le support matériel de l'hérédité) dans les cellules de la plante à utiliser. Par la suite, la plante croît en reproduisant la protéine qui est finalement extraite une fois qu'elle est récoltée. Actuellement, au moins 350 plantes génétiquement modifiées pour produire des composés pharmaceutiques sont en développement clinique au Canada et aux États-Unis (**Hood, 2003**).

### 5. Objectif de l'agriculture moléculaire

L'agriculture moléculaire végétale semble offrir des avantages économiques et techniques pour la production de substances notamment pharmaceutiques : (Hood., 2003)

- -Amélioration de la productivité.
- -Des coûts de production moins élevés comparativement aux méthodes traditionnelles.
- -Des produits plus sécurisés pour les consommateurs.

## 6. Historique de l'agriculture moléculaire

### 6.1. Naissance

L'agriculture moléculaire est née suite à la publication d'un article dans Nature décrivant la production d'un anticorps recombinant fonctionnel chez les plants de tabac. Cela a été rapidement suivi par un article dans Bio/technologie (plus tard rebaptisé Nature Biotechnology) dans lequel de la sérumalbumine humaine fonctionnelle était produite dans des plants de tabac et de pomme de terre ainsi que des cellules de suspension de tabac dérivées de la lignée de tabac transgénique ( **Fischer et al. 2020**).

### 6.2. Première phase

-La première protéine recombinante d'origine végétale était l'albumine sérique humaine, initialement produite en 1990 dans des plants de tabac et de pomme de terre transgéniques. Des essais de culture en plein champ de ces cultures ont commencé aux États-Unis en 1992 (**Sijmons et al. 1990**).

-Au début des années 2000, l'industrie pharmaceutique était robuste. Une preuve de concept a été établie pour la production de nombreuses protéines thérapeutiques, notamment des anticorps, des produits sanguins, des cytokines, des facteurs de croissance, des hormones, des enzymes recombinantes et des vaccins humains et vétérinaires (**Richard et al. 2003**).

- En 2003, plusieurs produits protéiques d'origine végétale destinés au traitement de maladies humaines étaient en cours de développement par près de 200 sociétés de biotechnologie (**Robert, 2007**).

-A la fin de 2002, juste au moment où ProdiGene augmentait la production de trypsine pour le lancement commercial, il a été découvert que des plants spontanés (restés de la récolte précédente) de l'un de leurs produits de maïs GM ont été récoltés plus tard avec la culture de soja conventionnelle planté dans ce champ. ProdiGene a été condamné à une amende de 250 000 \$ et condamné par l'USDA à payer plus de 3 millions de dollars en frais de nettoyage. Cela a soulevé une fureur et a fait reculer le domaine de l'agriculture moléculaire (**Kaiser, 2008**).

# Chapitre 1 Généralité sur l'agriculture moléculaire

---

## 6.3. Deuxième phase

Plus tard, la bulle pharmaceutique de l'agriculture moléculaire s'est élargie (**Spiegel et al.2018**) :

-En 2012, des cellules de carotte ont été utilisées pour fabriquer la première protéine recombinante pharmaceutique dérivée de plantes à être approuvée pour un usage humain par la Food and Drug Administration des États-Unis (**Hood ,2004**).

-En 2014, lors de l'épidémie de virus Ebola en Afrique de l'Ouest, un vaccin produit par l'agriculture moléculaire a reçu l'approbation de la FDA pour une utilisation d'urgence

-Et à la suite de plusieurs négociations, les régulateurs ont abouti à de nouvelles directives pour la fabrication de produits pharmaceutiques dans des plantes transgéniques et ont ouvert la voie à d'autres projets utilisant cette technique inhabituelle (**Fisher 1999**).

## 7. Règlementation de l'agriculture moléculaire

Cette réglementation change d'un pays développé à un autre, mais en général, les plantes destinées à la moléculaire sont considérées comme toute autre plante transgénique et sont étudiées au cas par cas, selon leurs caractéristiques. Parmi ces réglementations (<http://www.agriculture.gouv.fr>) :

-La production en milieux confinés : Les cultures destinées à la moléculaire peuvent être produites dans des milieux confinés, comme dans des serres (serres protégées comportant des caractéristiques spéciales limitant le pollen, les insectes, les rongeurs, etc.), des mines ou des grottes. D'ailleurs, la production en grotte est une avenue intéressante qui commence à se développer au Canada et aux États-Unis. Ensuite, les cultures peuvent être isolées dans des tunnels de plastique. Toutes ces techniques ne peuvent cependant pas garantir à 100 % que le matériel génétique ne se répandra pas. En effet, ces installations ne sont pas à l'abri des tornades, des feux et des inondations (**woodard 2004**).

- L'isolation génétique : L'isolation génétique consiste à faire en sorte que le pollen reste sur le site de production par des techniques comme la stérilisation mâle, la récolte de la production avant la floraison et le développement du pollen, et l'insertion des gènes dans les chloroplastes (ciblage ; targetting). En effet, le pollen ne contient pas de chloroplaste, ce qui diminue les risques de contamination. Jusqu'à présent, cette technique a fonctionné seulement avec le tabac et les pommes de terre (**Hood ,2003**).

## Chapitre 1 Généralité sur l'agriculture moléculaire

- Les distances d'isolation des cultures : Les distances entre les cultures destinées à l'agriculture moléculaire et les cultures traditionnelles font aussi partie des mécanismes d'isolement. Il faut noter que les connaissances scientifiques de la pollinisation sur de longues distances sont peu avancées.

### 8. Principaux compagnies de moléculateur dans le monde

Plusieurs compagnies de biotechnologie à travers le monde se sont déjà intéressées au potentiel de l'agriculture moléculaire végétale. La liste qui suit n'est pas exhaustive, mais présente les principaux acteurs dans le domaine (Tableau 2), ainsi que les produits sur lesquels ils effectuent des recherches (Hood, 2003) :

**Tableau 2** : Les principales compagnies mondial de l'agriculture moléculaire à travers le monde

Pays	compagnies	Progrès
Canada	Médicago inc. (Québec)	feuilles de luzerne pour la production d'hémoglobine.
	SembioSys Genetics inc. (Calgary)	carthame (oléagineux) pour la production d'un peptide anti-obésité et de somatotrophine.
	Plantigen (Ontario)	essais sur plusieurs plantes pour la production de protéines.
Etats-Unis	CropTech Corp.	feuilles de tabac pour la production d'uronidase, d'irunosidase, de glucocérébrosidase (pour la maladie de Gaucher) et de vaccins.
	DowAgrosciences	maïs pour la production de vaccins et d'anticorps afin de prévenir certaines maladies animales.
	IPT (Monsanto)	maïs pour la production d'anticorps et de somatotrophine.
	Large Scale Biology Corp. (Vacavill, CA)	feuilles de tabac utilisées pour développer de l'alpha-galactosidase et combattre le lymphome non-Hodgkinien.
	PlantGenix inc. (Philadelphie, PA) non déterminé/Prodigene inc.(Collegestation, TX)	grains de maïs pour la production de laccase, avidin, bêta-glucoronidase et d'aprotinine.

## Chapitre 1 Généralité sur l'agriculture moléculaire

Pays	compagnies	Progrès
Etats-Unis	PlanetBiotechnology (Californie)	feuilles de tabac pour produire un rince-bouche anti-carie.
	SubTerra/Prairie Plant Systems	tabac pour la production de glycoprotéine B contre le cytomeglovirus (HCMV).
Allemagne	Planton	tubercules de pommes de terre.
	Greenovation	maïs pour la production du facteur IX pour le traitement de l'hémophilie B.
	MPB Cologne	tubercules de pommes de terre, grains de canola pour la production d'anticorps afin de détecter des pathogènes transmis par l'eau ou la nourriture.
France	Meristem Therapeutics (Clermont-Ferrand)	grains de maïs, feuilles de tabac pour la production d'hémoglobine, de lipase gastrique, de collagène, d'interféron bêta, de lactoferrine et d'albumine.
Suisse	Syngenta	anticorps et autres.
Danemark	Cobento Biotech	<i>arabidopsis</i> (mauvaise herbe dans la famille de la moutarde)

### 9. Rentabilité de l'agriculture moléculaire

Plusieurs caractéristiques rendent le calcul des coûts de production assez complexe. Des considérations pratiques et économiques détermineront le choix de la protéine et de la culture dans laquelle elle sera produite.

Un des principaux arguments en faveur de la production de médicaments à partir de plantes manipulées génétiquement est la diminution des coûts.

- la moléculaire permet d'utiliser des plantes comme plate-forme de production, au lieu de systèmes de fermentation coûteux.

- La moléculaire permet aussi de varier l'échelle de la production et atteindre un taux de dix mille copies par cellule (**SKIREDJ, 2008**).

Les protéines peuvent être produites dans les plantes à 2 % jusqu'à 10 % du coût des systèmes de fermentation microbienne, et à 0,1 % du coût des cultures de cellules de

## Chapitre 1 Généralité sur l'agriculture moléculaire

---

mammifères ou d'animaux transgéniques, tant que des rendements adéquats peuvent être atteints.

Le coût de production des protéines recombinantes dans des fermenteurs cellulaires est estimé à plus de 300 \$ par g de protéine, plus élevé 3 000 fois que les estimations pour les plantes recombinantes. Le coût de production d'anticorps dans les plantes devrait être la moitié de celui des animaux transgéniques et 20 fois inférieures à celui des cultures de cellules de mammifères.

On s'attend à ce que suffisamment d'antigènes de l'hépatite B soient cultivés pour vacciner tous les enfants du monde chaque année sur environ 200 acres de terrain, et chaque vaccin contre le VHB requis chaque année en Chine peut être produit sur 40 acres (**Basaran et al. 2008**).

### 9.1. Raisons d'augmentation des coûts

Certains scientifiques prétendent que la moléculture ne sera pas rentable pour plusieurs raisons (**SKIREDJ, 2008**) :

1. Trop dispendieux de purifier les biomolécules des plantes.
2. Des sommes énormes devront être investies afin d'empêcher la pollinisation croisée.
3. les coûts de responsabilité en cas de contamination des cultures conventionnelles.

Mais le manque de données rend toute généralisation sur la rentabilité commerciale de la moléculture difficile à faire.

## 10. Avantages de l'agriculture moléculaire

Les principaux arguments avancés en faveur de l'agriculture moléculaire pour la production de composés pharmaceutiques sont (**Yao et al. 2015**) :

-La culture moléculaire des plantes est une alternative viable à la production actuelle de particules biopharmaceutiques.

-Faibles coûts et sécurité des produits. Par exemple, la société américaine Immunex a de gros problèmes d'approvisionnement pour son médicament Embrel®. Ce dernier est utilisé

## Chapitre 1 Généralité sur l'agriculture moléculaire

---

pour la polyarthrite rhumatoïde. C'est un médicament coûteux, il peut être produit via l'agriculture moléculaire en usine en plus à moindre coût.

-Production sûre car il n'y a pas de transmission de toxines ou d'agents pathogènes à l'homme.

-Les plantes contiennent des cellules eucaryotes qui offrent l'avantage de la maturation des protéines.

- Les protéines se trouvent presque prêtes à l'emploi.

-Diminuer les effets secondaires.

- Les molécules fabriquées au sein de l'agriculture sont des substances stables.

- Production de nouvelle forme de composés pharmaceutiques pour le diagnostic et le traitement des maladies comme les nouveaux vaccins comestibles.

### 10.1. Vaccins comestibles

Les vaccins comestibles semblent être bénéfiques pour plusieurs raisons :

1. Les vaccins comestibles impliquent l'administration directe d'antigènes qui amènent le système immunitaire à produire des anticorps pour défendre le corps sans injecter au corps humain des bactéries ou des virus atténués (SKIREDD, 2008).

2. les vaccins comestibles n'ont pas besoin d'une chaîne du froid, qui est l'ensemble des mesures prises pour réduire les virus et les bactéries (Fisher et Emans, 2000). Au Canada, ils viennent de développer une nouvelle variété de riz à haute teneur en hormone (GLP -1), aidant le pancréas pour produire de l'insuline. Ce riz pourrait servir de traitement pour les personnes atteintes de diabète (SKIREDDj, 2008).

## 11. Risques soulevés par l'agriculture moléculaire

L'agriculture moléculaire est une technique relativement nouvelle très peu d'information est encore connue sur les effets des produits biopharmaceutiques fabriqués à partir des plantes sur la santé humaine et l'environnement. (SKIREDDJ, 2008).

# **Chapitre 1 Généralité sur l'agriculture moléculaire**

---

## **11.1. Potentiel allergène**

Les cellules des plantes pourraient ajouter certaines molécules aux protéines durant la glycosylation. Ces molécules peuvent être très différentes de celles ajoutées par les cellules animales. Il faudra donc plus de recherches sur le potentiel allergène de ces produits chez les humains (Hood, 2003).

## **11.2. Contamination de la chaîne alimentaire**

La contamination de la chaîne alimentaire par des produits pharmaceutiques d'origine végétale, cela peut se produire en raison du transfert de matériel génétique de plantes génétiquement modifiées vers des cultures vivrières, en utilisant le même équipement pour récolter et traiter des cultures vivrières et génétiquement modifiées sans décontamination appropriée, et en cultivant des cultures vivrières dans le même champ dans lequel la culture génétiquement modifiée a été cultivée avant et aucune décontamination n'a été effectuée (Ombre, et al, 2011).

## **11.3. Risque d'exposition involontaire**

Le potentiel pour des organismes non ciblés (y compris les humains et les animaux de ferme) d'entrer en contact avec une protéine recombinante produite par une plante transgénique (SKIREDJ, 2008).

## **11.4. Risque de propagation du transgène**

Il peut être défini comme le potentiel de propagation des séquences d'ADN du transgène en dehors des plantes hôtes et du site de production prévus en raison de la pollinisation croisée de la culture moléculaire et des cultures conventionnelles ou des mauvaises herbes apparentées et ceci est principalement associé avec la transformation nucléaire plutôt que la transformation chloroplastique ou l'utilisation de vecteurs viraux (Basaran et al.2008).

## **11.5. Perte des caractéristiques des plantes mises en culture**

Certaines plantes d'une même variété risquent d'être remplacés par des PGM (plantes génétiquement modifiées) par exemple le développement de nouvelles plantes adventices qui compliquerait le travail des agriculteurs, d'où une perte éventuelle de biodiversité du

## **Chapitre 1 Généralité sur l'agriculture moléculaire**

---

pool de gènes disponibles dans la nature ainsi que la perte de biodiversité animale à cause de la perte de sources alimentaires secondaires (SKIREDJ, 2008).

Jusqu'à présent, il n'y a eu aucun rapport d'une telle incidence à ce jour, même si une attention particulière doit être accordée à ces cultures transgéniques cultivées plantées pour l'agriculture moléculaire en raison des propriétés pharmaceutiques ou par conséquent toxiques qui les caractérisent (Olawole et al, 2011).

### **11.6. Consommateurs face à l'agriculture moléculaire végétale**

L'agriculture moléculaire végétale attire de plus en plus l'attention des médias et suscite des craintes et des questions chez le public. En effet, la moléculture utilise des plantes génétiquement modifiées, et la polémique sur les OGM est bien connue de tous actuellement. Les produits de l'agriculture moléculaire diffèrent parce qu'ils ne sont pas destinés à l'alimentation humaine ou animale, mais développés pour produire une plus grande variété de médicaments à des coûts moins élevés. Cet argument ne satisfait pas tout le monde, surtout pas ceux qui s'opposent aux techniques du génie génétique utilisées pour manipuler les organismes vivants (SKIREDJ, 2008).

## **12. Défis de l'agriculture moléculaire**

Les méthodes actuelles en biotechnologie végétale ne peuvent pas contrôler avec précision le niveau d'expression des transgènes dans les plantes de manière cohérente et toutes les espèces végétales ne sont pas facilement transformées. Cela signifie que la quantité de produits pharmaceutiques produits peut varier dans chaque espèce végétale, ou toujours dans différentes parties de la plante (c'est-à-dire les feuilles, les fruits et les graines). Les niveaux d'expression dans les générations suivantes peuvent également varier. Compte tenu de ce scénario, il est très difficile de quantifier avec précision le dosage approprié de vaccins comestibles pour les enfants et les patients adultes. Les vaccins comestibles peuvent également déclencher une tolérance immunitaire après administration orale. Enfin, la plupart des protéines ingérées seront dégradées par les processus digestifs. Collectivement, ces inconvénients restreignent considérablement l'utilisation clinique des vaccins comestibles. Bien que la science de la PMF soit relativement nouvelle, les systèmes d'expression de cellules microbiennes et animales sont utilisés depuis plus de 30 ans, et l'industrie a développé des protocoles de purification standard et à haut débit. En

## Chapitre 1 Généralité sur l'agriculture moléculaire

---

revanche, les protocoles de purification des protéines pharmaceutiques d'origine végétale sont variés (Yao J. et al, 2015).

## **CHAPITRE 2**

### **Les plantes comme des bio-industries**

## **Les plantes comme système d'expression**

Les progrès de la technologie de l'ADN recombinant, de la technologie de transformation des plantes et de l'ingénierie des anticorps sont les principales raisons pour lesquelles les plantes ont émergé en tant que système d'expression. Historiquement, les bactéries étaient souvent le système d'expression protéique de choix et les cellules de levure ou les systèmes cellulaires d'insectes infectés par le baculovirus avaient une importance mineure. Bien que les bactéries soient un système de production pratique et peu coûteux, elles sont incapables de la plupart des modifications post-traductionnelles nécessaires à l'activité de nombreuses protéines de mammifères. Cette limitation et le coût d'expression des protéines dans les cellules de mammifères ont incité l'exploration des plantes, en tant qu'alternative bon marché, sûre et efficace (**Fischer et Emans, 2000**).

Bref, les avantages de l'utilisation de plantes supérieures à des fins de production de protéines comprennent (**Horn et al.2004**) :

- Des coûts de production nettement inférieurs à ceux des animaux transgéniques, de la fermentation ou des bioréacteurs ;
- L'infrastructure et l'expertise existent déjà pour la plantation, la récolte et la transformation du matériel végétal ;
- Les plantes ne contiennent pas d'agents pathogènes humains connus (tels que prions, virions, etc.) qui pourraient contaminer le produit final.
- Les plantes supérieures synthétisent généralement des protéines à partir d'eucaryotes avec un repliement, une glycosylation et une activité corrects ;
- Les cellules végétales peuvent diriger les protéines vers des environnements qui réduisent la dégradation et donc augmentent la stabilité.

## **2. Comparaison entre les différents systèmes d'expression**

Les systèmes d'expression végétaux sont attrayants car ils offrent des avantages significatifs par rapport aux systèmes d'expression classiques basés sur des cellules bactériennes, microbiennes et animales.

Les méthodes classiques d'expression des protéines nécessitent souvent un investissement important dans la purification des protéines recombinantes (bactéries) ou nécessitent des milieux de croissance coûteux (cellules animales). Les bactéries produisent des endotoxines contaminants qui sont difficiles à éliminer et les protéines recombinantes exprimées de manière bactérienne forment souvent des corps d'inclusion, ce qui rend nécessaire un repliement *in vitro* coûteux en main-d'œuvre et en coût. La culture de cellules de mammifères peut être difficile, nécessite un équipement sophistiqué et des suppléments de milieux coûteux, tels que le sérum de veau fœtal.

Avec ces systèmes d'expression classiques, des précautions considérables doivent également être prises lors du traitement en aval des protéines recombinantes pour éliminer les séquences oncogènes, les protéines ou les contaminants viraux pour des applications thérapeutiques *in vivo*. De plus, l'utilisation d'animaux transgéniques comme source d'anticorps recombinants est de plus en plus limitée par des contraintes juridiques et éthiques.

Les plantes transgéniques produisant des niveaux élevés de protéines recombinantes sûres et fonctionnelles peuvent être cultivées à l'échelle agricole et l'agriculture moléculaire ne nécessite qu'une plante infectée par un virus ou transgénique, de l'eau, des sels minéraux et la lumière du soleil.

Les virus végétaux chimériques, produits dans les plantes, peuvent également être utilisés pour la présentation de vaccins sur la surface virale. La facilité avec laquelle les plantes peuvent être manipulées génétiquement et cultivées dans une culture en suspension cellulaire unique ou agrandies pour une production à l'échelle du terrain, est un grand avantage par rapport aux méthodes microbiennes les plus couramment utilisées, la culture de cellules de mammifères et la technologie des animaux transgéniques (**Fischer et Emans, 2000**).

### **3. Effet des plantes utilisées pour l'agriculture moléculaire sur la santé humaine**

Certaines plantes utilisées pour l'agriculture moléculaire pourront produire des composés (p. ex. des produits pharmaceutiques) susceptibles d'avoir des effets sur la santé humaine. Des effets inconnus sur la santé humaine pourraient résulter d'une ingestion accidentelle ou

d'un contact chez ceux qui les produisent ou chez d'autres personnes. Certaines de ces plantes ont fait l'objet d'essais au champ au Canada dans des conditions de confinement de nature à empêcher le matériel végétal d'entrer en contact avec des aliments destinés aux humains ou aux animaux. On tient compte de la sécurité des personnes et des possibilités d'exposition professionnelle et fortuite avant d'autoriser de tels essais au champ.

Aucune plante destinée à l'agriculture moléculaire n'est actuellement produite à l'échelle industrielle et aucune n'a encore fait l'objet d'une autorisation de dissémination dans l'environnement en milieu ouvert au Canada. À la demande des intervenants, l'ACIA à élaborer des directives qui s'appliqueront à l'utilisation préindustrielle de végétaux pour l'agriculture moléculaire; ces directives comporteront des mesures strictes visant à empêcher le matériel végétal d'entrer en contact avec des aliments destinés aux humains ou aux animaux et à empêcher qu'il soit disséminé dans l'environnement s'il peut avoir des effets négatifs sur la santé de ceux qui le produisent ou d'autres personnes

(<https://inspection.canada.ca/varietes-vegetales/vegetaux-a-caracteres-nouveaux/grand-public/mv/fra/1337444001505/1337444120102>).

### 4. Principales plantes utilisées en agriculture moléculaire

La production de protéines dans la plante présente de nombreux avantages. Un de ses avantages est que les agents pathogènes infectant les plantes ne les sont pas pour les humains. Inversement, les agents pathogènes humains ne se retrouvent pas associés aux plantes. Aussi, les plantes effectuent des modifications post-traductionnelles, comme l'assemblage multimarque et avec quelques différences mineures dans l'étape de la glycosylation, ce qui n'est pas possibles avec les plates-formes de production bactériennes. Il est possible d'exprimer la protéine d'intérêt dans des tissus précis de la plante (e.g. expression dans la partie comestible de la plante), ce qui aide dans la purification de la protéine d'intérêt. Finalement, les plantes peuvent croître dans des conditions non stériles, ce qui est moins coûteux que la fabrication de protéines recombinantes dans des cellules animales (**Ganon A.B., 2006**).

Les principales plantes utilisées en moléculaire sont le tabac, le maïs, la pomme de terre et la luzerne (**Fischer et Emans, 2000**).

Ces végétaux seraient capables de produire facilement de nombreuses molécules complexes. Les molécules produites sont le plus souvent des protéines destinées principalement à un usage pharmaceutique, comme les anticorps et l'interleukine humaine qui agit contre le cancer.

([http://www.ogm.gouv.qc.ca/information\\_generale/utilisations\\_potentielles\\_ogm/vegetaux\\_gm/molecule\\_vegetale.html](http://www.ogm.gouv.qc.ca/information_generale/utilisations_potentielles_ogm/vegetaux_gm/molecule_vegetale.html) )

Ce n'est pas un hasard si ces plantes ont été choisies pour des essais en agriculture moléculaire végétale, ils sont déjà utilisés dans le domaine des biotechnologies.

Le maïs est utilisé parce qu'il se cultive facilement et le tabac parce qu'il se manipule facilement sur le plan génétique, produit de nombreuses graines et possède de larges feuilles générant une très grande biomasse (**Hood, 2003**).

La luzerne et le soja, quand à ces deux espèces, elles ont l'avantage majeur d'utiliser l'azote atmosphérique par fixation de l'azote, réduisant ainsi le besoin d'engrais chimiques. La luzerne est particulièrement utile car elle a un grand rendement en biomasse sèche par hectare et peut être récoltée jusqu'à neuf fois par an (**Twyman, et al, 2003**).

Enfin la pomme de terre est idéale pour la production de protéines recombinantes car elle possède des organes comestibles pouvant être consommée en tant que matière non transformée ou partiellement transformée. En tant que production de protéine de capsid de rota virus VP6 dans des pommes de terre transgéniques pour la vaccination contre la gastro-entérite virale aiguë (**Twyman, et al, 2003**).

De plus, des recherches ont été faites sur leur pollinisation, leur génétique, la dormance de leurs semences et leur potentiel de se comporter comme des mauvaises herbes. Ces informations deviennent cruciales lorsque vient le temps d'établir le mouvement du pollen et la possibilité de transfert des gènes entre les plantes conventionnelles et celles issues du génie génétique. Toutes ces informations sont alors utilisées afin d'isoler au maximum les essais en champ (**Hood, 2003**).

## **5. Meilleure plante à utiliser en agriculture moléculaire**

Le choix de la plante à utiliser dépend d'un certain nombre de facteurs, notamment ses méthodes de culture, sa transférabilité, son coût de culture, la production et la transformation du tissu cible, l'existence de parents sauvages et le degré de croisement avec des parents sauvages (**Basaran et al. 2008**).

Les protéines végétales recombinantes ont été exprimées dans différentes plateformes telles que les cultures feuillues, les céréales, les fruits et légumes (**Nahampun, 2015**). La quantité de protéine en pourcentage peut aller de 1 % à plus de 40 % selon la source végétale et tissulaire (**Basaran et al. 2008**).

Il a été difficile d'évaluer les performances relatives de différentes cultures pour choisir ce qu'on appelle meilleure choix de l'agriculture moléculaire industrielle ou pharmaceutique, car cela nécessite la production de la même protéine dans le même hôte, en utilisant une construction d'expression « standardisée ». La performance d'une construction d'expression à travers les espèces est elle-même difficile à juger, car la même espèce peut avoir un niveau intrinsèque d'activité et de spécificité différent dans différents contextes génétiques (**Basaran et al. 2008**).

### **5.1. Cultures feuillues**

Les cultures feuillues (tabac, luzerne et laitue) fournissent une biomasse importante, un délai de production rapide et plusieurs périodes de récolte par an. Le système de production à base de feuilles convient aux produits qui nécessitent une purification immédiate s'ils ne sont pas conservés congelés ou séchés, car la feuille n'est pas un environnement stable en raison de la présence d'enzymes protéolytiques (**Twyman et al, 2003**).

De plus, les métabolites tels que la nicotine ou les alcaloïdes du tabac et l'acide oxalique de la luzerne sont toxiques et doivent être éliminés des produits finaux. Le tabac est la plante feuillue hôte prédominante pour l'expression de protéines hétérologues. Il a été largement étudié et un protocole de transformation pour cette plante a été établi. Le tabac a été utilisé pour exprimer des vaccins, des anticorps et des cytokines. Un article récent a signalé la production d'anticorps monoclonaux dérivés du tabac Zmapp® produits par Protalix et utilisés pour traiter les patients atteints d'Ebola (**Nahampun, 2015**).

La luzerne est une autre plante feuillue principalement utilisée pour l'expression de protéines hétérologues. La luzerne ne fournit pas seulement une grande biomasse sèche mais permet également une production continue de protéines recombinantes pouvant être récoltées plusieurs fois (jusqu'à 9 fois) par an (**Twyman et al, 2003**).

### 5.2. Céréales

Les graines ont des compartiments de stockage spécialisés qui aident à réduire la dégradation des protéines, l'exposition de la protéine recombinante aux composés phénoliques est également évitée, améliorant ainsi le traitement en aval. Un certain nombre de cultures céréalières comme le maïs, le riz et le blé ont été utilisées pour la production de protéines recombinantes. Des légumineuses comme le pois et le soja ont également été utilisées pour exprimer des protéines étrangères (**Yao et al. 2015**).

Les protéines exprimées dans les graines de céréales sont protégées de la dégradation protéolytique ; ils peuvent rester stables jusqu'à trois ans à température ambiante et au moins trois ans à température du réfrigérateur sans perte significative d'activité.

Le maïs a été choisi par Prodigene Inc, un leader de l'industrie dans la production commerciale de protéines à base de céréales, parce qu'il a un rendement élevé en biomasse, parce qu'il est facilement transformé et manipulé in vitro, et parce que la production de maïs transgénique peut être facilement étendue. Le maïs a été utilisé pour la production commerciale des protéines techniques avidine et b-glucuronidase (GUS). En outre, Prodigene explore son utilisation pour la production de vaccins sous-unitaires, d'anticorps recombinants et d'autres enzymes techniques, telles que l'aprotinine et la laccase (**Fischer et al, 2004**).

### 5.3. Les légumes et les fruits

Les légumes et les fruits peuvent être utiles pour l'administration de médicaments par voie orale.

Les vaccins qui permettent leur inclusion directe dans l'alimentation réduisent donc le coût de la purification (**Nahampun, 2015**).

Par conséquent, une variété d'hôtes d'expression différents a été évaluée. La pomme de terre a été le premier système majeur à être utilisé pour la production de vaccins, et des tubercules de pomme de terre transgéniques ont été administrés à l'homme dans au moins

trois essais cliniques à ce jour. Au cours de la dernière année, les pommes de terre ont été évaluées pour la production d'albumine sérique humaine, de nouveaux candidats vaccins, de facteur de nécrose tumorale à (TNF- $\alpha$ ) et d'anticorps. D'autres hôtes de production qui ont été utilisés pour exprimer des vaccins comprennent les tomates, les bananes, les carottes, la laitue, le maïs, la luzerne, le trèfle blanc et *Arabidopsis* (Fischer et al. 2004).

Mais, les fruits et légumes ont une demi-vie courte et ne conviendra pas aux produits de grande valeur (Nahampun H. N, 2015).

### 5.4. Autre

Récemment, il a eu des développements importants dans l'utilisation d'espèces végétales plus diverses telles que les algues vertes (*Chlamydomonas reinhardtii*), les lentilles d'eau (*Lemna*) et les mousses (*Phscomitrella patens*), qui peuvent être propagées et transformées pour produire les protéines recombinantes. L'utilisation de plantes cultivées non alimentaires ou non fourragères éliminerait évidemment la possibilité d'un contact et d'une contamination involontaires et indésirables de l'alimentation humaine ou animale (Basaran et al.2008).

L'expression de molécules étrangères dans les plantes est le facteur le plus important pour produire des protéines recombinantes et peut dicter l'économie du produit ainsi que les problèmes réglementaires.

La production de protéines recombinantes dans les plantes fait référence à la croissance, la récolte, le transport, le stockage et le traitement des tissus de la culture après la récolte, ainsi que l'extraction et la purification de la molécule d'intérêt (Fischer et al. 2004).

Le choix des espèces hôtes et du système de production est également affecté par les coûts d'installation, les coûts de mise à l'échelle et de maintenance, la durée du cycle de production, le rendement de la biomasse, les coûts de transformation et de comestible, les coûts de stockage et de distribution, et les coûts de nettoyage de la contamination (Basaran et al. 2008).

## 6. Stratégie

Dans cette technique, les plantes sont considérées comme des hôtes où les molécules destinées sont produites (Yao J. et al, 2015).

Pour produire des protéines recombinantes en utilisant les plantes comme des bio-usines .Il y a plus d'une stratégie en agriculture moléculaire cela dépend de quelques déférences dans les étapes principales comme : les méthodes d'expressions et les méthodes de transformation du gène :

### 6.1. Méthodes d'expressions dans les plantes

Il existe actuellement deux stratégies d'expression de séquences étrangères dans les plantes : la transformation génétique stable et l'expression transitoire (**Bougie, 2004**) :

#### 6.1.1. Transformation génétique stable (Sahu et al.2014)

La transformation stable dans le génome nucléaire est effectuée principalement en utilisant des méthodes de transformation par médiation d'*Agrobacterium* ou de bombardement de particules. Dans chaque cas, la transcription intégrale du gène est assurée par la présence d'un promoteur immédiatement au début de la région codante. Ainsi, lorsque la plante est propagée, chaque plante transmettra cette propriété à sa descendance un grand nombre de plantes contenant le gène transféré sont facilement générées. Il est également possible de livrer des gènes dans le génome séparé des plastes (chloroplastes et mitochondries) dans les cellules végétales. Exemple : tabac et pomme de terre. Étant donné que les gènes des génomes chloroplastiques ne sont pas transmis par le pollen, les gènes recombinants sont plus faciles à contenir, évitant ainsi une fuite indésirable dans l'environnement.

#### 6.1.2 Expression transitoire de gènes

L'expression transitoire est une méthode simple pour une expression génique rapide sans intégration du gène d'intérêt dans le génome hôte. L'ADN d'intérêt est délivré aux cellules hôtes de la plante, ce qui a entraîné une expression génique qui ne dure que pendant une certaine période de temps et les protéines recombinantes peuvent être récoltées par la suite (**Nahampun , 2015**).

L'expression transitoire de gènes est souvent préférable à l'établissement de transfactants stables, car cette deminière approche prend beaucoup de temps et exige que la protéine exprimée n'ait pas d'effet négatif sur la croissance des cellules. Le choix d'un promoteur adéquat est important. Majoritairement, on choisit un promoteur fort et constitutif, puisque, dû à l'instabilité génétique, il y a possibilité que le gène s'excise (**Ganon, 2006**).

Avant de s'investir profondément dans le processus de transformation, l'efficacité d'expression des constructions plasmiques et l'activité des protéines sont d'abord vérifiées par des tests en expression transitoire. Les principaux problèmes sont alors identifiés puis corrigés, augmentant la probabilité de générer la bonne plante transgénique. L'expression transitoire dans les plantes offre plusieurs avantages par rapport à la génération de plantes transgéniques. Le plus important est qu'en quelques jours, le produit d'un gène d'intérêt peut être isolé et analysé pour vérifier sa fonctionnalité et sa stabilité. Si une modification est désirée, elle peut être introduite sans besoin de générer d'autres lignées de plantes transgéniques (Bougie, 2004).

### 6.2. Méthodes de transformation du gène

#### 6.2.1. Agroinfection (Fischer et Emans, 2000).

Le terme « agroinfection » a d'abord été utilisé pour décrire l'utilisation d'*Agrobacterium* pour l'introduction de molécules infectieuses dans les plantes.

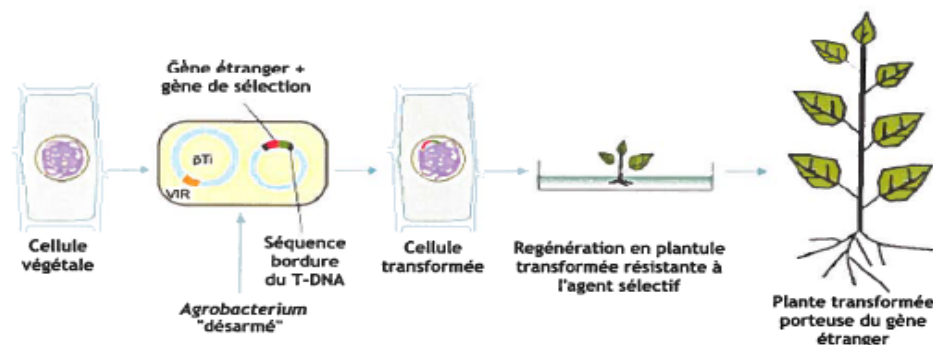
Les agrobactéries portant le vecteur d'expression sont délivrées dans le tissu foliaire par infiltration sous vide. Les protéines agrobactériennes catalysent ensuite le transfert du gène d'intérêt dans les cellules hôtes et l'expression des protéines peut être détectée trois jours après l'infiltration.

Comme dans les méthodes conventionnelles de génération de plantes transgéniques, les gènes d'intérêt sont clonés dans des vecteurs binaires qui sont transférés dans des souches d'*Agrobacterium* appropriées. Une suspension bactérienne est ensuite utilisée pour l'infiltration sous vide des feuilles et aucune méthode de sélection pour identifier les cellules transformées n'est requise puisque le tissu foliaire n'est utilisé que pour la production transitoire de protéines, ce qui permet l'utilisation de vecteurs plasmiques plus petits.

Dans l'agroinfiltration, l'ADN-T transféré ne s'intègre pas dans le chromosome hôte mais est présent dans le noyau, où il est transcrit, ce qui conduit à une expression transitoire du gène d'intérêt. Un avantage majeur de cette technique est que plusieurs gènes présents dans différentes populations d'agrobactéries peuvent être exprimés simultanément. Ainsi, l'assemblage de protéines multimères complexes peut être testé *in planta*. Pour les plantes transgéniques, cela ne peut être réalisé que par des expériences de croisement

chronophages avec des lignées de plantes transgéniques individuelles, chacune exprimant un seul composant du multimètre.

L'agroinfiltration est rapide et produit des quantités suffisantes de protéines pour la caractérisation initiale de la stabilité et de la fonction des protéines. Il est important de noter que l'agroinfiltration peut être étendue pour produire des dizaines de milligrammes de protéine recombinante et peut même s'avérer appropriée pour les essais précliniques sans avoir besoin de produire des plantes transformées de manière stable.



**Figure 1 : Méthode de transformation de cellules végétales par agroinfection en vue d'une expression stable.**

Un gène d'intérêt et un marqueur de sélection dans la plante sont clonés dans un vecteur binaire. Ce dernier est transformé dans *Agrobacterium tumefaciens* porteur du plasmide Ti. Un bouillon de culture est mis en présence de disques foliaires pour une co-culture de 48 heures. Ceux-ci sont ensuite transférés sur un milieu de culture contenant un agent de sélection pour la régénérescence des cellules transformées (cals). Les plantules transformées avec le gène d'intérêt montrent la croissance de racines et de tiges et sont cultivées dans un milieu adéquat pour la régénérescence d'une plante complète.

### 6.2.2. Vecteurs viraux

Les vecteurs viraux sont utilisés comme méthode d'expression transitoire.. Les virus sélectionnés sont manipulés afin d'introduire dans le génome du virus le gène d'intérêt codant pour la protéine désirée. Suite à l'introduction du virus dans la plante, le gène d'intérêt est répliqué et traduit comme les protéines du virus. De plus, les virus nouvellement formés peuvent se propager dans la plante. Ce qui permet une augmentation de la production de protéines recombinantes. Les vecteurs viraux permettent ainsi l'expression d'un gène étranger, avec une forte amplification intracellulaire du transgène

par le virus porteur. Les vecteurs viraux végétaux dérivent principalement de virus à ARN simple brin de polarité positive virale (Ganon , 2006).

**6.2.3. Bombardement au moyen de micro particules**

Le bombardement particulaire infect inefficacement les plantes monocotylédones.il est donc principalement utilisées pour transformer les cellules de ces plantes, comme le maïs et le riz. Cette méthode consiste à précipiter te matériel génétique désiré sur des microparticules d'or ou de tungstène. Ces billes sont ensuite propulsées à la vitesse requise pour pénétrer dans le noyau de quelques cellules végétales. L'ADN y est libéré et intégré au génome de la plante de manière aléatoire. Il s'agit de la procédure la plus fréquemment utilisée pour l'expression transitoire (Bougie, 2004).



**Figure 2 : Méthode de transformation de cellules végétales par bombardement particulaire en vue d'une expression stable ou transitoire.**

Appareil de biolistique PDS-1000 He-system commercialisé par BIO-Rad. La pression des gaz propulse les microbilles d'or préalablement enrobées de l'ADN à tester. Si une plante transgénique est désirée, (1) des disques foliaires seront bombardés puis mis à régénérer. Si par contre, des analyses en expression transitoire sont recherchées, le bombardement s'effectuera sur une feuille de jeune plante.

## 7. Modifications post-traductionnelles chez les plantes

L'un des principaux avantages de tous les systèmes à base de plantes est que les plantes ont une voie de sécrétion similaire à celle des cellules de mammifères, ce qui leur permet de se replier et d'assembler efficacement des protéines complexes en raison de la présence de chaperons et d'isomérases disulfure de protéines qui catalysent les liaisons disulfure, cette capacité n'est pas courante dans les systèmes de production bactérienne. Cela s'est avéré inestimable pour la production de produits pharmaceutiques, en particulier de protéines multimères telles que les anticorps, mais également de protéines techniques complexes telles que le collagène et la soie d'araignée (**Basaran et al.2008**).

La voie de sécrétion est l'endroit où les modifications post-traductionnelles (PTM) sont effectuées, y compris la glycosylation, la -carboxylation, la -hydroxylation, l'amidation, l'hydroxylation de la proline et la sulfatation.

La glycosylation a reçu la plupart d'attention car il existe des différences dans les structures des N-glycanes et des O-glycanes entre les plantes et les mammifères, et même entre différentes espèces de plantes et de mammifères, ce qui peut affecter la structure de la protéine, l'activité biologique et la stabilité lorsque la protéine est injecté comme une drogue (**Yao et al. 2015**).

### 7.1. Glycosylation

Le contrôle précis de la glycosylation a permis la production de glycoprotéines d'origine végétale pareil ou compatibles avec des glycanes humains, ainsi que la manipulation de la biométrie dans lesquels les profils de glycanes ont été modifiés pour améliorer l'efficacité ou la longévité, ou pour simplifier le traitement en aval (**Tschofen et al. 2016**).

La glycosylation des transprotéines dans les plantes diffère légèrement de celles produites chez les animaux transgéniques ou les cellules animales in vitro. L'ajout de xylose et le changement d'une liaison b1!6 à b1!3 du fucose sont typiques chez les plantes. Une différence significative avec la production de transprotéines chez les plantes est leur incapacité à ajouter de l'acide sialique aux glycoprotéines (**Horn, Woodard, Howard, 2004**).

Les acides sialiques sont absents dans les plantes, ces derniers sont importants, en particulier pour la demi-vie des glycoprotéines circulantes de mammifères. L'absence de

tels résidus conduit à une élimination rapide de la protéine du flux sanguin via l'intervention de récepteurs de surface des cellules hépatiques (**Lerouge et al, 2003**) donc c'est un facteur majeur pour un groupe sélectionné de protéines pharmaceutiques (**Woodard et al.2004**).

L'obtention de N-glycanes sialylés dans les plantes, en adaptant la machinerie de maturation des N-glycanes végétaux, nécessiterait le transfert d'au moins cinq différents gènes hétérologues codant des enzymes impliquées dans la biosynthèse de l'acide sialique dans le cytosol et son transport dans l'appareil de Golgi. Les enzymes manquantes de cette voie métabolique devraient non seulement être exprimées de façon stable mais aussi être adressées de façon correcte et, enfin, être actives dans la cellule végétale. Pour ces différentes raisons, la production de glycoprotéines recombinantes sialylées dans les plantes représente un nouveau challenge dans le domaine des biotechnologies végétales. Cependant, dès aujourd'hui, il paraît techniquement possible d'atteindre cet objectif ambitieux (**Lerouge et al. 2003**).

Ces différences ont eu un effet minime ou nul sur la fonction des produits transprotéiques des plantes à ce jour (**Horn et al.2004**).

D'autres modifications chimiques interviennent également (**SKIREDj, 2008**) :

### 7.2. Acétylation

Affecte 80% des protéines et qui correspond au transfert d'un groupe acétyl au groupe aminé N-terminal, semble être un facteur déterminant pour la durée de vie des protéines.

### 7.3. Acylation

L'acylation par un acide gras permet l'insertion de la protéine dans la bicouche lipidique membranaire.

### 7.4. Phosphorylation

Concerne les résidus internes et est une substitution du groupe hydroxyle des sérines, thréonine et tyrosine par un groupe phosphoryle. Cette réaction, facilement réversible, est catalysée par des protéines kinases et des protéines phosphatases. Elle sert à ajuster l'activité de nombreuses protéines.

## 8. Traitement en aval

### 8.1. Extraction

Si la protéine est à extraire d'un tissu ou d'une culture de cellules, 3 méthodes sont possibles :

#### 8.1.1. A partir des tissus entiers

On choisit un matériel tissulaire riche en cette protéine. On le broie grâce à l'appareil de Potter. L'éclatement des cellules est achevée par choc osmotique ou encore par sonication ce qui va lyser les membranes des cellules. Pour ne pas dénaturer les protéines, on travaille en milieu tamponné et à 0°C (glace) : on obtient enfin un homogénat cellulaire. On élimine ensuite les débris cellulaires par centrifugation. On facilite la solubilisation des protéines dans des solutions salines et on obtient alors un extrait brut (Roque et al, 2004).

#### 8.1.2. A partir d'un type cellulaire isolé à partir du tissu

On utilise pour cela un trieur de cellules (généralement cytofluorimètre). Des Ac reconnaissent spécifiquement une population cellulaire et vont la marquer grâce à un fluorochrome auquel ils sont couplés. L'appareil sélectionne donc des cellules fluorescentes (Aline, 2009).

#### 8.1.3. A partir d'un organite particulier

On effectue alors un fractionnement cellulaire, c-à-d qu'on sépare les différents constituants de la cellule grâce à l'ultracentrifugation = sédimentation accélérée. L'accélération (= la pesanteur) est remplacée par une accélération centrifuge ( $\gamma$ ) qui est développée par un rotor tournant à grande vitesse angulaire ( $\omega$ ). On obtient alors une force centrifuge (F) (Aline, 2009).

La tendance d'une particule à se déplacée dans une solution sous l'effet de la force centrifuge est donnée par un coefficient de sédimentation (s). Les molécules sphériques et de petites tailles ont un faible coefficient de sédimentation (Roque et al, 2004).

### 8.2. Précautions à prendre lors de la préparation des protéines purifiées

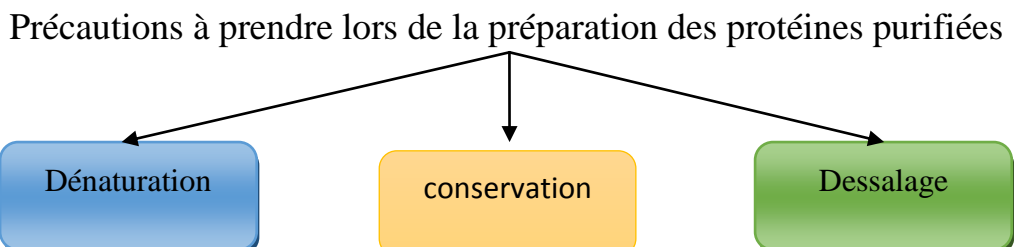


Figure 3 : les précautions à prendre lors de la préparation des protéines purifiées

### 8.2.1. Dénaturation

Généralement on isole une protéine pour utiliser et étudier ses propriétés biologiques or on sait que celles-ci sont étroitement liées au maintien de la forme native de la protéine en question. Il faut donc veiller à la stabilité de celle-ci tout au long des traitements en contrôlant notamment la température, le pH, la force ionique, afin de ne pas rompre les liaisons faibles (**Kula, 1990**).

### 8.2.2. Conservation

On veut éviter que la protéine soit dégradée par des protéases c'est pourquoi on travaille souvent à +4°C et avec des inhibiteurs de protéases. A plus long terme on peut procéder à une congélation (de -20°C à -80°C). On peut également utiliser l'azote liquide (-196°C). On peut aussi faire de la lyophilisation : technique qui permet d'éliminer l'eau, on obtient l'échantillon sous forme déshydratée (**Thommes et Kula, 1995**).

### 8.2.3. Dessalage

On utilise un boudin de dialyse : c'est une membrane poreuse aux petits diamètres qui permet la diffusion uniquement des sels. Cela permet donc de dessaler la solution (**Thommes et Kula, 1995**).

## 8.3. Purification

Pour la purification et traitement en aval des protéines recombinantes (**TALHI, 2019/2020**) :

-Le traitement en aval comprend des processus qui impliquent la récupération, l'isolement et la purification de la protéine recombinante à partir de plantes. La récupération implique généralement le traitement du tissu végétal, la séparation solide-liquide et l'extraction des protéines, tandis que la purification consiste en une extraction liquide-liquide, une centrifugation, une immun précipitation, une chromatographie et une filtration sur membrane, etc.

-Le traitement des feuilles nécessite une attention particulière pour empêcher la dégradation des protéines par les protéases. Les feuilles doivent être traitées immédiatement après la récolte ou doivent être congelées, d'autre part les risques de dégradation des protéines recombinantes exprimées en les graines sont moins nombreuses que les feuilles, de sorte que les graines peuvent être stockées plus longtemps. La production de protéines recombinantes dans la sécrétion cellulaire peut également être très bénéfique car il n'est alors pas nécessaire de perturber les cellules végétales pendant la récupération, cependant, dans le milieu de culture, la protéine recombinante peut ne pas être stable. D'autres moyens de récupération des protéines consistent à utiliser des étiquettes d'affinité.

-Les étiquettes de protéines doivent être retirées après purification pour restaurer la structure de la protéine purifiée à son état natif. La technologie de fusion Oleo sin, développée par Symbiosis Genetics Inc est un autre système dans lequel la séquence du

gène de la protéine recombinante est fusionnée à la séquence d'une protéine endogène spécifique au corps huileux, l'oléosine du colza et du carthame, après purification, la protéine est séparée par une digestion par une protéase finale.

-Les problèmes rencontrés lors de l'extraction des protéines comprennent principalement la dégradation protéolytique et la modification structurale due à la réaction avec les composés phénoliques. Lors de l'élaboration d'une stratégie pour la production de protéines hétérologues dans les plantes, il convient de tenir compte de la faisabilité du traitement en

Aval de la protéine recombinante pour obtenir un rendement optimal en protéines.

### 8.3.1 Principales techniques de séparation et caractérisation des protéines

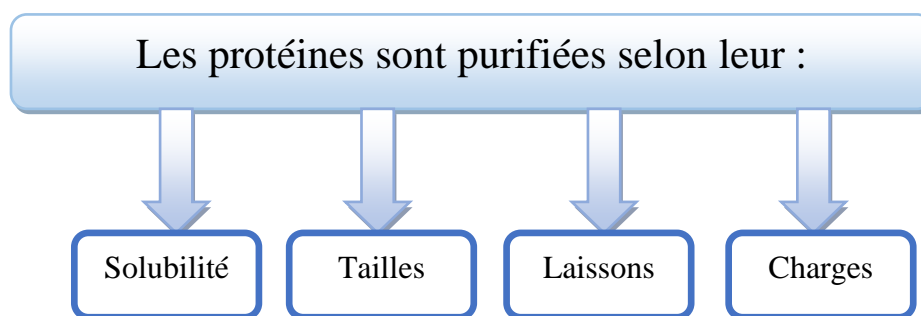


Figure 4 : Les principales techniques de séparation des protéines selon leur taille

#### 8.3.1.1 Solubilité (Kula, 1990)

La solubilité peut être utilisée pour purifier certaines protéines car certaines sont solubles dans des conditions données alors que d'autres précipitent dans ces mêmes conditions.

Facteurs qui l'affectent :

- Influence de la concentration en sel
- Influence des solvants organiques
- Influence du pH

#### 8.3.1.2 Séparation des protéines selon leur taille

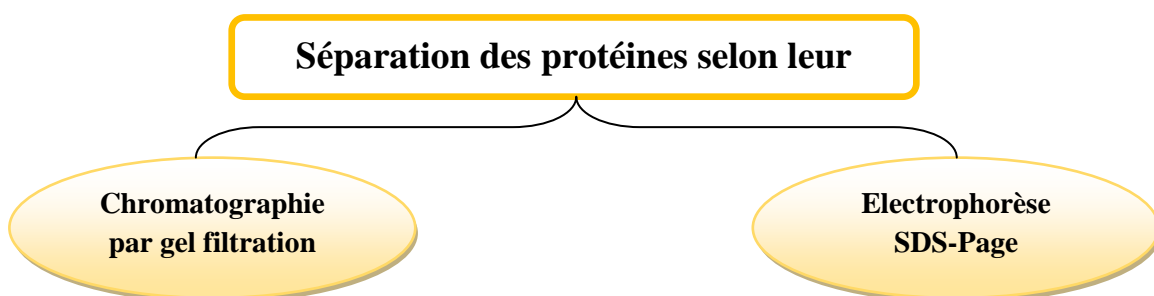
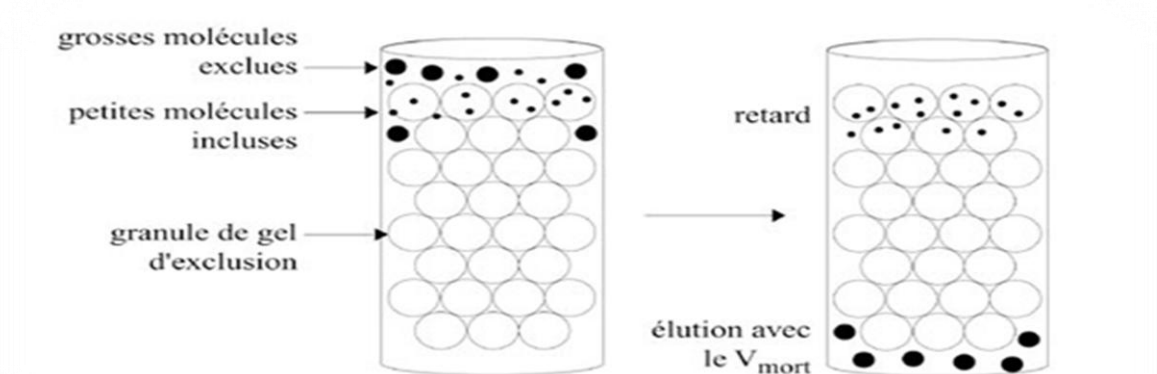


Figure 5 : les méthodes de séparations des protéines selon leur taille

**Principe :** Des sphériques et poreuses remplissent une colonne de chromatographie. Ces billes peuvent être composées d'agarose, de polyacrylamide ou de dextran. Les billes ont de concentrations plus ou moins différentes donc le diamètre des pores varie. Le volume total de gel introduit dans la colonne (que l'on note  $V_T$ ) comprend le volume extérieur aux billes ( $V_0$ ), appelé « Volume Mort » ; le volume libre des billes  $V_i$  ; et le volume occupé par la matière constituant les billes  $V_g$ . Le volume d'éluion  $V_e$  correspond au volume de phase mobile nécessaire pour récupérer un composé après son dépôt sur le gel. Le volume mort  $V_0$  est déterminé par mesure du  $V_e$  d'un composé dont la masse moléculaire est supérieur à la limite d'exclusion de gel (c-à-d taille minimale d'une protéine pour qu'elle soit exclue des billes). Lorsque le mélange de composés passe à travers la colonne, les molécules se distribuent entre  $V_0$  et  $V_i$  en fonction de leur capacité à pénétrer dans les pores des billes (c-à-d en fonction de leur taille). Plus les molécules sont grosses plus elles auront des difficultés à pénétrer dans les pores. Si la molécule est trop grosse, elle ne rentre donc pas dans les billes, elle est donc exclue en premier de la colonne et se retrouve dans les premières fractions d'éluion. Plus la molécule est petite plus elle pourra pénétrer dans les différents pores des billes ce qui va la ralentir dans la colonne et donc elle sortira après un volume plus important d'éluion. Si la molécule peut entrer dans les pores du gel, sa répartition entre les phases externes et les phases internes est donnée par un coefficient dit « coefficient de distribution »  $KD = (V_e - V_0) / V_i$

La chromatographie est terminée lorsqu'un volume de solvant a traversé la colonne. Le volume d'éluion est proportionnel à la masse moléculaire de la protéine. Donc on peut tracer une droite d'étalonnage avec des protéines de poids moléculaires connues (pour faire une gamme) (Masselot, 2005)

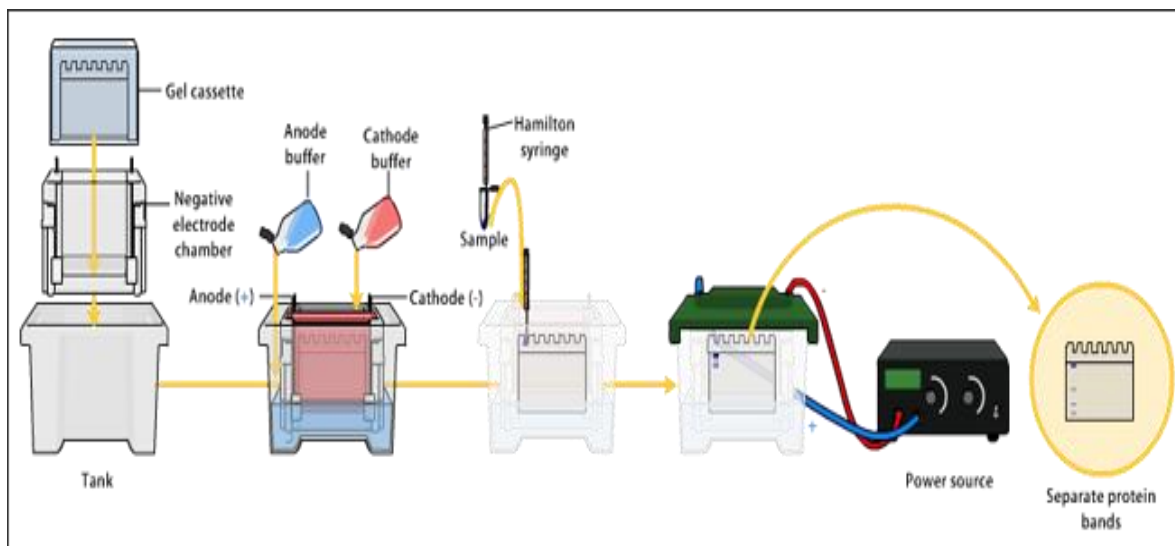


**Figure6 :** le principe de la chromatographie d'exclusion moléculaire

**Electrophore SDS-Page :**

- SDS : Sodium Dodécyl Sulfate
- PAGE : Poly Acrylamide GEL

Les SDS possèdent une longue queue hydrophobe qui se termine par un groupement sulfate de charge négative. La longue queue hydrophobe interagit avec les chaînes protéiques. Le nombre de molécules de SDS liées à la protéine est proportionnel à la longueur de la protéine. Les charges négatives apportées par le SDS favorise la migration du complexe [Protéine – SDS] vers l'électrode +. Collectivement l'ensemble chargé négativement est très largement supérieur à la charge propre de la protéine donc toute les protéines vont être chargée – fortement. Le SDS est aussi un détergent ; il détruit donc les structures quaternaires et tertiaires des protéines. Cette électrophorèse est généralement effectuée en présence d'un agent réducteur : le bêta-mercaptoéthanol ( $\beta$ ME). La mobilité des protéines est inversement proportionnel à sa masse moléculaire donc on peut également faire une droite d'étalonnage qui relie distance de migration au poids moléculaire. ( **TALHI 2019/2020**)



**Figure7 : les principes de l'électrophorèse SDS-Page**

### 8.3.1.3 Séparation selon la spécificité de leur liaison

#### Chromatographie d'affinité

Dans le cas où l'on veut isoler une protéine ayant une affinité particulière pour un ligand, le ligand fixé par liaison covalente sur un support insoluble. (**Hage, 2005**), Au cours de la

chromatographie, la protéine sera fixée au ligand et sera retenue sur la colonne. (Roque et al. 2007)

Les protéines contaminants non fixées. Pour récupérer la protéine d'intérêt, on utilise une solution contenant le ligand soluble en forte concentration. Cela va permettre la dissociation et l'éluion de la protéine voulue. (Narayanan, 1994 ; Newcombe et al. 2000).

#### 8.3.1.4 .Séparation en fonction de la charge

##### Chromatographie échangeuse d'ions Electrophorèse

Elle est caractérisée par le déplacement de molécules chargées dans un champ électrique. La vitesse de déplacement d'une molécule dépend du potentiel des champs électrique (noté E), de la charge de la protéine (notée q) et de son coefficient de friction (noté f).  $V = (E \cdot q) / f$

f = mesure de la résistance que la solution exercée sur la molécule qui se déplace, cela dépend de la taille, de la forme de la protéine et de la viscosité du gel. Ainsi chaque protéine se déplace à une vitesse spécifique constante. (TALHI, 2019/2020)

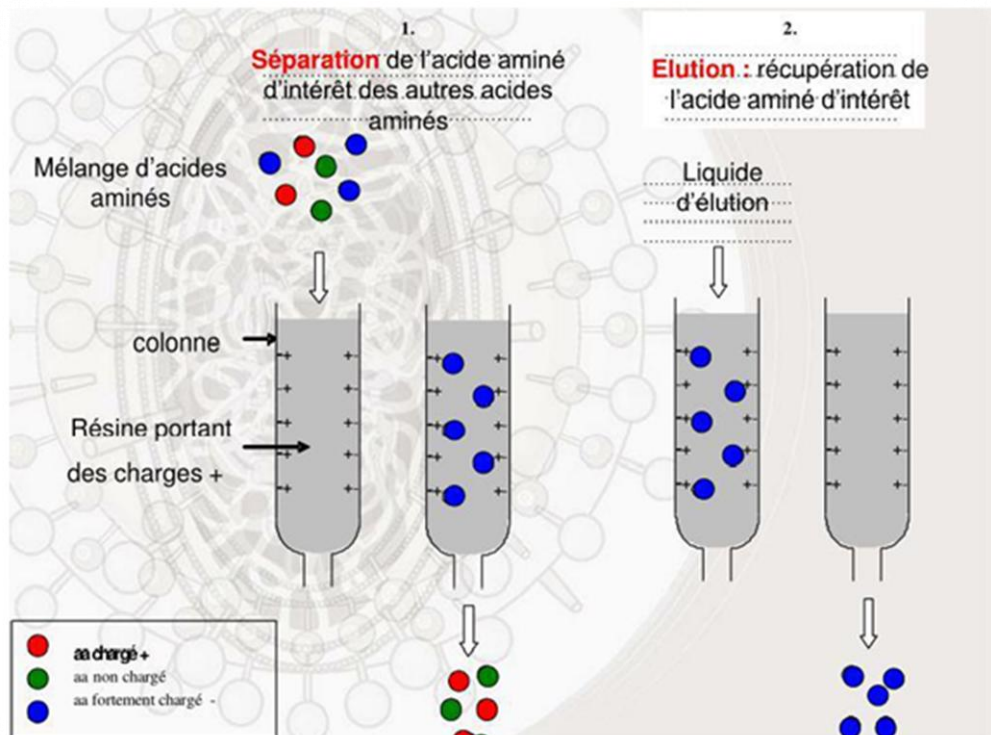


Figure 8 : chromatographie d'échange d'ions (TALHI, 2019/2020)

### 9. Analyse quantitative et qualitative de la purification

Ce test doit être spécifique, doit être reproductible, et doit être d'une grande praticabilité (réalisation rapide) (Henry et al .2001).

A partir de ce test on détermine 2 grandeurs qui sont des critères appréciant l'intérêt de la purification.

**Quantitatif** : avec une notion de rendement :

$$R = \frac{\text{activité totale de la fonction purifiée}}{\text{activité totale de l'extrait brut}} * 100$$

(Fisher et al.2020).

**Qualitatif** : taux, degrés de purification.

$$\text{Degrés de Purification} = \frac{\text{activité spécifique de la fonction purifiée}}{\text{activité spécifique de l'extrait brut}}$$

(Fisher et al.2020).

Différentes techniques se succèdent dans un protocole de purification ; il faut donc sans cesse réaliser un compromis entre ces deux critères.

En effet il ne faut pas trop perdre d'activité biologique tout en enrichissant les fractions obtenues en la protéine voulue (Vikas et al).

## **Chapitre 3**

# **Les molécules d'intérêt pharmaceutique au sein de l'agriculture moléculaire**

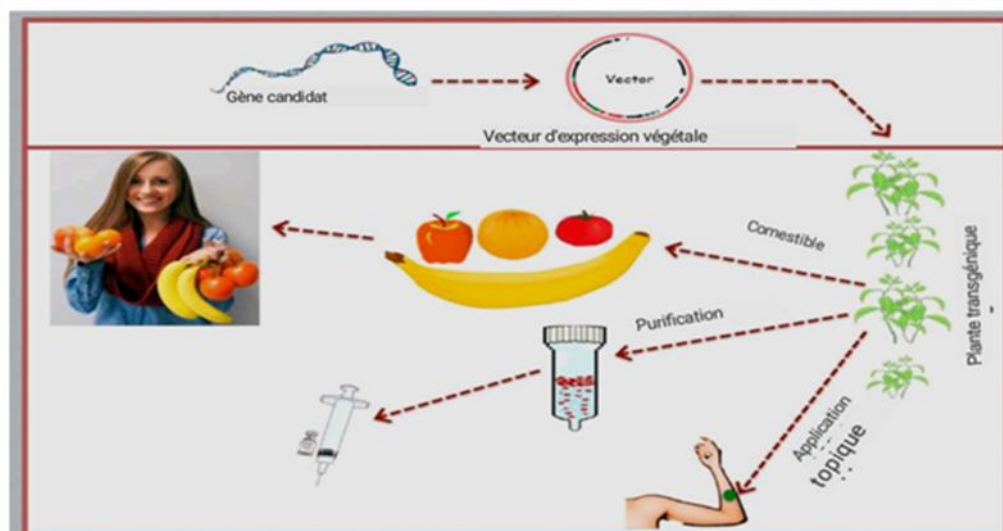
## Chapitre 3 L'application de la technologie dans le domaine pharmaceutique et commerciale

Les plantes ont traditionnellement été utilisées comme source de médicaments (obtenus soit par extraction à partir de composés naturels, soit synthétisés par un procédé chimique), mais l'utilisation de plantes génétiquement modifiées en agriculture moléculaire (molecular farming) représente une nouvelle approche de médicaments moléculaires (biosynthèses). Ce domaine comprend les protéines plasmatiques, les enzymes, les facteurs de croissance, les vaccins et les anticorps recombinants. **(Barta et al.1986)**

L'agriculture moléculaire, est une nouvelle approche de la production de produits pharmaceutiques, où des protéines recombinantes précieuses peuvent être produites dans des organismes génétiquement modifiés à l'échelle agricole. **(Fisher et al ; 1999)**

Jusqu'à récemment, la large utilisation de ces médicaments moléculaires était limitée par la difficulté de produire ces protéines en dehors des animaux ou des cultures de cellules animales. Les plantes ont démontré dans les années 1990 que de nombreux médicaments moléculaires pouvaient être synthétisés dans les plantes. L'objectif de la technologie de la culture moléculaire est de produire des médicaments plus sûrs, plus faciles à produire et aussi moins chers que ceux produits à partir d'animaux ou de cultures microbiennes.

**(Fischer et al. 2002)**



**Figure 9** : Les applications de l'Agriculture moléculaire  
**(Yao j et al.2015)**

### 1. Les protéines recombinantes au sein de l'agriculture moléculaire

#### Historique

- Les plantes ont fourni aux humains des molécules utiles depuis de nombreux siècles, mais seulement au cours des vingt dernières années, Il est devenu possible d'utiliser des plantes pour produire des hétéroprotéines spécifiques ( **Mishra ,2017**).
- La première protéine produite pharmaceutiquement dans les plantes était l'hormone de croissance humaine, qui a été exprimée dans les plants de tabac transgéniques en 1986. Dans cette étude, l'hormone a été exprimée comme une fusion avec *Agrobacterium nopaline* et ou enzyme synthase (**Barta et al, 1986**).
- En 1989, le premier anticorps a été exprimé dans les plantes de tabac génétiquement modifiés ce qui a montré que les plantes pouvaient assembler des glycoprotéines fonctionnelles complexes avec plusieurs sous-unités (**Hiatt et al.1989**).
- L'authenticité structurelle des protéines recombinantes végétales ont été confirmées en 1992, lorsque les plantes ont été utilisées pour la première fois pour produire un vaccin expérimental : la surface du virus de l'hépatite B (VHB) antigène ( **Julian et al.2003**).
- Dans un autre rapport, le même groupe a montré que le vaccin produit dans les plants de tabac induit la réponse immunitaire attendue après avoir été injecté à des souris (**Mason et al. 1999**).
- Plus récemment, la gamme des protéines recombinante fabriquées dans les plantes s'est étendue à l'élaboration des enzymes industrielles (**Hood et al. 2003**).
- Des protéines techniques qui sont utilisées en recherche comme l'avidine . (**Hood et al. 1997**).
- Des protéines de lait adaptées compléments nutritionnels (**Chonget al 1997**) et nouveaux polymères protéiques à usage médical et industriel (**Ruggieroet al. 2000**)

## 2. Protéines a usage pharmaceutiques

De nombreuses protéines pharmaceutiques d'origine mammifère ont été synthétisées dans les plantes. Ceux-ci allant des produits sanguins, tels que l'albumine sérique humaine, cytokines et d'autres molécules de signalisation qui sont nécessaires dans de nombreuses confusions de plus petites quantités. Jusqu'à récemment, la plupart des protéines végétales étaient produites dans du tabac génétiquement modifié et extraites directement des feuilles. Ces protéines sont typiquement produites à de faibles niveaux généralement inférieurs à 0,1 % de la protéine soluble totale. Au cours des dernières années, le système chloroplastique du tabac a été utilisé pour exprimer des protéines humaines à beaucoup à des niveaux plus élevés. L'hormone de croissance humaine a été produite dans les feuilles de tabac transplasmique à des niveaux dépassant 7 % de la protéine soluble totale. ( **Staub et al .2000**) et l'albumine sérique humaine a été produit à des niveaux supérieurs à 11% de la totale soluble protéine (**Daniell et al. 2003**).

Des niveaux d'expression plus élevés ont également été obtenus chez d'autres espèces végétales. Par exemple, l'hirudine, qui est exprimé sous la forme d'une fusion avec la protéine du corps huileux oléosine, a été produite dans le canola transgénique à 0,3 % de la protéine totale des graines (**Moloney et al.2003**).

## 3. Classification des protéines recombinantes au sein de L'agriculture moléculaire

Protéines à usage pharmaceutique produits dans les plantes transgénique :

Selon woodard (2004) : il y a quatre classes (figure 10) :

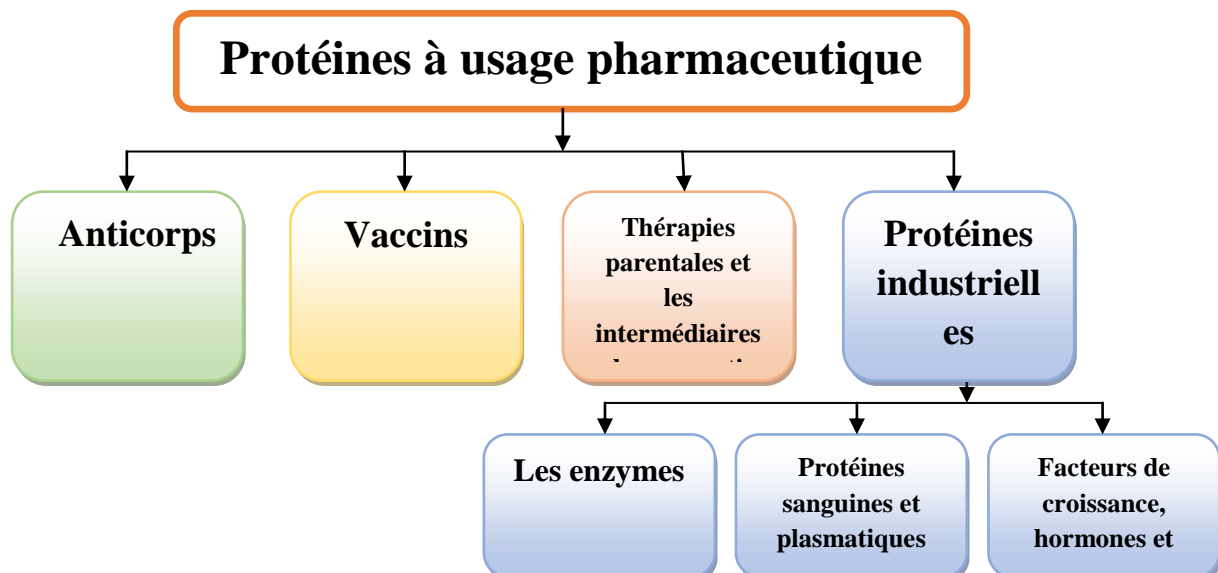


Figure 10 : classification des protéines recombinantes au sein de la moléculaire farming

### 3.1. Anticorps

#### 3.1.1. Définition

Les anticorps sont des glycoprotéines multi-sous-unités produites par le système immunitaire des vertébrés. Ils reconnaissent et se lient à leurs antigènes cibles avec une grande affinité et spécificité, ce qui leur permet d'être utilisés pour de nombreuses applications, dont le diagnostic, prévention et traitement des maladies humaines et animales. (**Andersen and Krummen, 2003 ; Chadd and Chamow, 2001 ; Fischer and Emans, 2000**)

Ce groupe comprend toutes les formes d'anticorps (IgA, IgG, IgM, IgA sécrétoires, etc.) et les fragments d'anticorps (Fv). Ils peuvent être produits dans les plantes sous formes glycosylées et non glycosylées. (**woodard ,2004**)

#### 3.1.2. Les anticorps au sein de l'agriculture moléculaire

Jusqu'à récemment, les anticorps monoclonaux n'étaient utilisés que pour traiter des maladies telles que l'arthrite, le cancer, les maladies immunitaires et inflammatoires. les anticorps recombinant ont maintenant été trouvés pour fournir une immunisation passive contre les agents pathogènes, en tant que tels sont potentialisés comme des alternatives prometteuses pour lutter contre les maladies infectieuses, notamment face à l'augmentation de la résistance microbienne aux antibiotiques et émergence de nouvelles pathogènes (**Casadevall,1998**), cependant, le coût de production élevé qui prévaut empêche leur introduction réussie sur le marché de la santé, en tant que thérapie de maladies infectieuses. Ces facteurs opposés appellent donc à des alternatives pour la production à grande échelle (**Stoger et al. 2005**) en vrac production dans le système de production établi- les cellules mammifère, pose actuellement un défi difficile, en ce qui concerne la complexité du produit et des différents processus impliqués, tels que les modifications post-traductionnelles et la protéolyse. Les plantes ne font pas que fournir des plateformes de production moins chères, sous forme d'anticorps d'origine végétale ne coûterait que 0,1 à 1 % du coût de production de l'élevage de mammifères et 2 à 10 % des systèmes microbiens (**Chen et al. 2005**), mais peut aussi semble des anticorps multimarques complexes (**Conrad et Fiedler, 1994**), en tant que tel peut être conçu pour la production de divers produits sur mesure comme les protéines pharmaceutiques.

## Chapitre 3 L'application de la technologie dans le domaine pharmaceutique et commerciale

---

Depuis que les premiers anticorps recombinants ont été exprimés dans les plantes en 1989 (Hiatt et al., 1989), différentes fractions allant de fragments Fv à chaîne unique (ScFv, qui contiennent la régions variables des chaînes lourdes et légères reliées par un flexible lier peptidique) aux fragments Fab (chaînes légères assemblées et chaînes lourdes raccourcies), petites protéines immunitaires (SIP), IgG et des IgA sécrétoires chimériques et des anticorps à domaine unique ont été également exprimés (Ismaili et al., 2007 ; Xu et al. 2007).

Deux approches principales sont utilisées pour produire des anticorps entiers biologiquement actifs dans les plantes. La première est obtenue par pollinisation croisée de plantes transformées individuellement exprimant la lumière ou de chaînes lourdes, d'où un rendement élevé qui atteint 1 à 5 % du total protéine végétale (Hiatt et al., 1989; Ma et al., (1994). La deuxième approche implique la co-transformation des gènes des chaînes lourdes et légères (During et al., 1990), deux ou plus cassettes d'expression (Nicholson et al., 2005). L'un de ces dérivés de plantes anticorps, un anticorps sécrétoire contre un antigène de surface de *Streptococcus* mutants s'est en fait avéré aussi efficace que le IgG de souris originales, en protégeant contre la colonisation de *S. mutants* sur dents (Ma et al., 1998).

Les anticorps a depuis été développé davantage par Planet Biotechnology, Inc. en un produit clinique, CaroRX™, qui a récemment reçu l'approbation de l'UE pour être utilisé comme avis médical pour la prévention des infections bactériennes buccales qui contribuent aux caries dentaires (Kaiser, 2008). Récemment, un anticorps monoclonal spécifique du VIH, qui a été produit dans des graines de maïs, s'est avéré aussi actif que son contrepartie dérivée des ovaires de hamster, en termes de liaison à l'antigène activité (Ramessar et al., 2008a, 2008b).

Il y a cinq différents anticorps monoclonaux d'origine végétale actuellement testés dans les essais cliniques, comme indiqué dans le tableau 1. Le sixième, Avicidine a été retiré des essais en raison de plusieurs effets secondaires subis par les participants, même s'il a montré des résultats prometteurs contre le cancer avancé du côlon et de la prostate .La première plante anticorps monoclonal scFv, utilisé dans la production d'un vaccin recombinant contre le virus de l'hépatite B, a été commercialisé à Cuba (Pujol et al., 2005).

## Chapitre 3 L'application de la technologie dans le domaine pharmaceutique et commerciale

### 3.3.3. Coûts de production des anticorps

Tableau n°03 : Coûts de production des anticorps selon (Daniell et al ,2001)

Coûts de production	Coûts en dollar /gramme
Hybridomes	1000
Animaux transgéniques	100
Plants transgéniques	10

-Anticorps produit par une plante génétiquement modifiée, c'est-à-dire l'insertion d'anticorps dans une plante transgénique, appelée plantibody.

-Selon Biorex : (**Caroline du Nord**) est la marque déposée pour les anticorps monoclonaux.

-Aucun risque de transmission de maladies à l'homme.

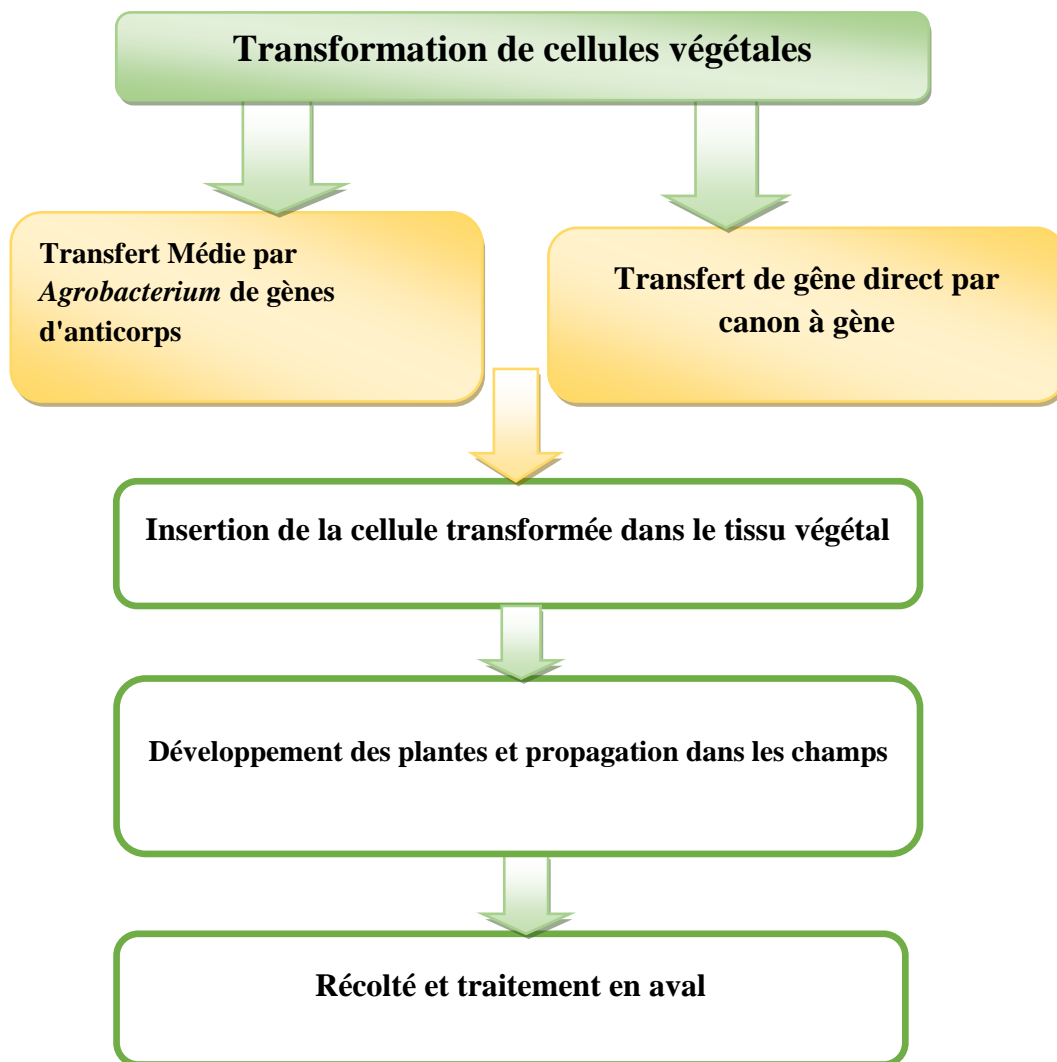
-**Selon Hiatt. et al. ,1989**) : Ils ont démontré pour la première fois la production d'anticorps dans le tabac en tant que protéine thérapeutique et protection des plantes contre les maladies.

-**Selon Daniel (2002)** :Il a signalé qu'en raison du manque de glycosylation, la transformation des chloroplastes est idéale pour le fragment à chaîne unique (scFv).

-L'agrofiltration est idéale pour l'expression transitoire des gènes des chaînes lourdes et légères.

-Tous les anticorps thérapeutiques actuels sont de la classe IgG. (**Stefan, 2002**)

-La purification est effectuée par des processus ,tels que la filtration ,l'immunofluorescence et la chromatographie. (**kula ,1995**)



**Figure 11** : méthodes de production des anticorps

- Des anticorps recombinant seront mentionnés dans le tableau 04

## Chapitre 3 L'application de la technologie dans le domaine pharmaceutique et commerciale

Tableau 04 représente des anticorps recombinants à usage pharmaceutique produites dans les plantes transgéniques

Anticorps Nom/type	Plant hôte	Application et spécificité	promoteur	Séquences de signaux	Niveau x d'expression	r éf
Guy's13 (SIG A)	Nicotine Tabac	Carie dentaires Streptocoque Antigène I or II	CaMV 35S	Peptides Signaux igG Murins	500 µg/g FWb feuille	4 5
C5-1(igG)	luzerne	Diagnostic : igG anti-humain	CaMV 35S	peptides signaux igG murins	1.0%T SP	64
ScFvT84.66 (ScFv)	blé	Traitement du Cancer Antigène -carcino- embryonnaire	Ubiquitine de mais	Peptides signaux igG murins KDEL	900.0 ng/g Feuille ; 5 KDEL 1.5 µg/g seed	69
ScFvT84.66 (ScFv)	riz	Traitement du Cancer Antigène carcino -embryonnaire	Ubiquitine de mais	Peptides signaux igG murins KDEL	29.0 µg/g feuilles 32.0 µg/g d grains; 3.8 µg/g cal	64
ScFv T84.66 (ScFv)	riz	Traitement du Cancer Antigène carcino-embryon	amélioré Camv 35S	Peptides signaux igG murins KDEL	27.0 µg/g Feuilles	70

## Chapitre 3 L'application de la technologie dans le domaine pharmaceutique et commerciale

Anticorps Nom/type	Plant hôte	Application et spécificité	promoteur	Séquences de signaux	Niveau x d'expression	r éf
<b>T84.66 (IgG)</b>	Nicotine tabac (de façon Transitoire avec Agrobactéri infiltration)	<b>Traitement du Cancer Antigène carcino-embryon</b>	<b>Amélioré 35S</b>	<b>TMV leader des peptides signal IgG murins; KDEL</b>	<b>1.0 µg/g 2.0 de feuilles</b>	<b>47</b>
<b>38C13(ScFv)</b>	<b>Tabac benthamia</b>	<b>Vaccin Idiotypique pour le traitement du lymphome à cellules B</b>	<b>TMV Subgéo- mique protéine d'enveloppe promoteur</b>	<b>α-amylase de riz</b>	<b>30.0 µg/g leaves</b>	<b>47</b>
<b>CO17-1A (IgG)</b>	<b>Tabac benthamia</b>	<b>Cancer du colon; antigène de surface</b>	<b>TMV Subgéo- mique Promoteur U5 CP</b>	<b>Peptides signaux igG murins KDEL</b>	<b>Non reporté</b>	<b>73</b>
<b>Anti-HSV -2 (IgG)</b>	<b>Soja</b>	<b>Signal d'extensine du tabac peptide</b>	<b>CaMV 35S</b>	<b>Peptide signal d'extensine de tabac</b>	<b>Non reporté</b>	<b>75</b>

## **Chapitre 3            L'application de la technologie dans le domaine pharmaceutique et commerciale**

---

### **3.2. Les thérapies parentales et les intermédiaires pharmaceutiques**

#### **3.2.1. Définition**

Ce groupe comprend toutes les protéines utilisées directement comme produits pharmaceutiques ainsi que les protéines utilisées dans la fabrication de produits pharmaceutiques. La liste de ces protéines est longue, et en croissance et comprend des produits tels que la thrombine et la collagène (thérapeutique) et trypsine et aprotinine (intermédiaires). En pratique, seules les protéines avec valeur élevée seront considérées comme des candidats pour l'agriculture. Les produits de cette classe doivent généralement être fabriqués sous GMPc strict et être d'une grande pureté. Les anticorps monoclonaux (AcM) peuvent également être classés dans ce groupe mais sont décrits séparément en raison de leurs caractéristiques distinctes. (woodard, 2004).

#### **3.1.2. Les thérapies parentales et les intermédiaires au sein de l'agriculture moléculaire**

-La première protéine humaine thérapeutique a été exprimée dans les plantes est l'hormone de croissance humaine (Barta et al., 1986)

-En 1990, le sérum humain l'albumine, qui est normalement isolée du sang, a été produite dans le tabac et la pomme de terre transgéniques pour la première fois (Sijmons et al., 1990)

-Depuis lors, plusieurs protéines humaines ont été exprimées dans les plantes.

- Ceux-ci incluent le facteur de croissance épidermique (Wirth et al., 2004; Bai et al., 2007)

-les interférons qui sont utilisés dans le traitement de l'hépatite B et C (Sadhu et Reddy, 2003 ; Zhu et al., 2004 ; Arlen et al., 2007),

-L'érythropoïétine, qui favorisent la production de globules rouges (Weise et al., 2007 ; Musa et al., 2009)

-l'interleukine, qui est utilisée dans le traitement de la maladie de Crohn Elias (Lopez et al., 2008 ; Fujiwara et al., 2010)

-L'insuline, qui est utilisé pour traiter le diabète (Nykiforuk et al., 2006)

-La glucocérébrosidase, qui est utilisée pour le traitement de la maladie de Gaucher cette maladie des cellules de carotte génétiquement modifiées (Shaaltiel et al., 2007) et plusieurs autres.

## Chapitre 3      L'application de la technologie dans le domaine pharmaceutique et commerciale

---

-Le tableau n°05 contient également la liste de certains protéines thérapeutiques, qui sont à divers stades des essais cliniques ou au sur le point d'être commercialisé.

-Les nutraceutiques antimicrobiens, tels que la lactoferrine humaine et les lysozymes, ont maintenant été produits avec succès dans plusieurs cultures (**Huanget al., 2008 ; Stefanova et al., 2008**), et maintenant disponible dans le commerce, uniquement sous forme de produits chimiques fins.

**Tableau 05 : Les thérapies parentales et les intermédiaires pharmaceutiques produites dans les plantes transgéniques**

Protéine thérapeutique	Utilisation potentielle	Hôte	réf
Hémoglobine A et B	Substitut de sang	tabac	42
Sérum albumine humaine (HAS)	Substitut de sang	Pomme de terre	65
a-tricosanthine	Thérapie du VIH	tabac	61
a-interféron	Protection virale anticancéreuse	riz	13
Facteur de croissance épidermique, Erythropoïétine, croissance des tubercules facteur	mitogène	tabac	66
Hirudine	anticoagulant	canola	56
Protéine c	anticoagulant	Tabac	10
Glutamate décarboxylase	diabète	tabac	61
Somatotrophine humaine	Nanisme hypo pituitaire	tabac	66
calcitonine	Maladie de paget, ostéoporos Carcinome parathyroïdien	patate	61

### 3.3. Vaccins

#### 3.3.1. Définition

La vaccination est l'administration d'un agent antigénique, (le vaccin), dans le but de stimuler le système immunitaire d'un organisme vivant afin de développer une immunité adaptative contre un agent infectieux. La substance active d'un vaccin est un antigène dont la pathogénicité du porteur est atténuée afin de stimuler les défenses naturelles de

## Chapitre 3 L'application de la technologie dans le domaine pharmaceutique et commerciale

---

l'organisme (son système immunitaire). La réaction immunitaire primaire permet en parallèle une mise en mémoire de l'antigène présenté pour qu'à l'avenir, lors d'une vraie contamination, l'immunité acquise puisse s'activer de façon plus rapide et plus forte.

### 3.3.2. Les vaccins au sein de l'agriculture moléculaire

La nature comestible des plantes représente un atout majeur dans la production de vaccins, qu'ils soient destinés à l'homme ou aux animaux. En effet, il est possible de déclencher une réponse immunitaire par l'administration d'un antigène par voie orale. Le virus de l'hépatite B affecte plus de 2 milliards d'individus et un vaccin pouvant être facilement distribué et administré dans les pays en voie de développement est hautement souhaitable. (Woodard,2004)

Des études menées chez les souris ont démontré que l'ingestion de pomme de terre exprimant un antigène de surface du virus de l'hépatite B déclenche une réponse immunitaire. Au cours des dernières années, d'autres types d'antigènes destinés à une administration orale ou par injection ont également été produits dans les végétaux.

Citons comme exemple la production de protéines vaccinales contre la toxine du choléra (12, 13), le cytomégalovirus, le *Staphylococcus aureus*, le virus de la grippe, l'entérotoxine B du *E. coli*, le parasite de la malaria, le virus de Norwalk, le virus de la rage et même contre le virus du VIH. (Fisher et al.1999)

La principale difficulté dans l'emploi d'un vaccin destiné à une administration orale est le dosage précis de la quantité d'antigène consommée. Les études précliniques et cliniques en cours permettront de mieux définir le potentiel des vaccins produits dans les plantes. Plusieurs groupes tentent actuellement de démontrer que l'utilisation des plantes permettra de produire des vaccins peu coûteux pouvant facilement être distribués et administrés à la population et contribueront ainsi à diminuer les coûts globaux de vaccination. (Hood et al.2003)

- Certains vaccins seront mentionnés dans le tableau n°06

**Tableau 06 représente les vaccins à usage pharmaceutique produites dans les plantes transgéniques :**

## Chapitre 3      L'application de la technologie dans le domaine pharmaceutique et commerciale

protéines	Plante	Application et spécificité	réf
<b>B et v 1</b>	tabac	<b>Substitut sanguin Traitement des allergies de type 1</b>	<b>43</b>
<b>Sous-unité de toxine B du choléra</b>	Pomme de terre	Traitement du choléra	3
<b>Glycoprotéine B du CMV</b>	tabac	Traitement d'une infection par le cytomégalovirus	2
<b>Sous-unité de toxine B du choléra fusionné avec insuline</b>	Pomme de terre	Traitement du diabète Auto-immun	61
<b>Peptide D2 de la protéine B liant la fibronectine de S. aureus</b>	haricot noir	Vaccin mucosal ne requérant pas d'adjuvant	3
<b>VP1</b>	luzerne, haricot noir	Traitement de la fièvre aphteuse	63
<b>Hémagglutinine</b>	tabac	Traitement de la grippe	77
<b>Antigène de l'hépatite</b>	Tabac et pomme de terre	Traitement de l'hépatite B	7
<b>Entérotoxine B de E. coli</b>	Tabac et pomme de terre	Traitement des diarrhées	62
<b>Épitope de P. falciparum</b>	tabac	Traitement du paludisme	43
<b>Protéine de capside</b>	Tabac	Traitement des diarrhées	72
<b>du virus de Norwalk</b>	Pomme de terre	causées par le virus de Norwalk	72
<b>Protéine G du virus De la rage</b>	tabac, épinard, tomate	Vaccination contre la rage	69

## Chapitre 3 L'application de la technologie dans le domaine pharmaceutique et commerciale

protéines	Plante	Application et spécificité	réf
Auto-antigène	pomme de terre	Traitement du diabète auto-immun	43
Glycoprotéine gp41	haricot	Virus du VIH	2

### 3.4. Protéines industrielles

#### 3.4.1. Protéines sanguines et plasmatiques

##### 3.4.1.1. Définition

Les protéines plasmatiques sont les protéines contenues dans le plasma sanguin. Le plasma contiendrait près de trois mille protéines différentes. Les protéines les plus représentées en proportion sont les suivantes :

Cependant même des protéines faiblement représentées en quantités peuvent avoir des fonctions essentielles pour l'organisme.

On peut distinguer plusieurs grandes catégories de fonctions assumées par les protéines plasmatiques ([https://fr.wikipedia.org/wiki/Prot%C3%A9ine\\_plasmatique](https://fr.wikipedia.org/wiki/Prot%C3%A9ine_plasmatique))

##### 3.4.1.2. Les protéines sanguines et plasmiques au sein de l'agriculture moléculaire

(Lerouge et al.2003)

De nombreuses protéines plasmatiques ont déjà été produites dans les plantes (**tableau n°07**). Ainsi, l'albumine humaine, une protéine plasmatique utilisée dans le contrôle de l'hypovolémie et de l'hypoalbuminémie dans certaines chirurgies et comme excipient de plusieurs médicaments, a été produite avec succès dans la pomme de terre et le tabac. D'autres protéines, comme l'aprotinine, des enképhalines et l'hémoglobine ont également été obtenues dans divers végétaux. Le collagène I, une molécule assemblée en hélice triple impliquée dans plusieurs mécanismes complexes comme l'organogenèse, l'attachement et la prolifération cellulaire, l'hémostase et la régénération de tissus, a également été produit dans des plants de tabac en vue d'une utilisation en thérapie mais aussi dans l'industrie cosmétique.

## Chapitre 3 L'application de la technologie dans le domaine pharmaceutique et commerciale

**Tableau07 : les protéines plasmiques et sanguines à usage pharmaceutique produites dans les plantes transgénique**

Proteine	plante	application	Pays D'origine	Institution	Commentaire	Réf
Albumine	pomme de terre , tabac	Contrôle du volume sanguin , excipient	Allemagne	Icon Genetics GmbH	Premier polymère protéique structurel humain produit dans une usine ; correct modification obtenue par co-transformation une enzyme de mod	215
			France	Meristem Therapeutics		
			Malaisie	Institut du Caoutchouc de Malaisie		
Apoprotini	Maïs	Anti-Fibrinolytique	Canada	sembiosys	Protéine Pharmaceutique humaine produite dans le maïs	7621
Enképhali	<i>Arabidopsis</i>	Analgésiqu	france	Meristem Therapeutics	Antihypertenseur analgésique par activité opiacée	76
Hémoglobine	Tabac	Substitut sanguin	france	Meristem Therapeutics	Protéine Pharmaceutique humaine produite dans le tabac	211812
Collagène	Tabac	Agent Homéostatique, scellant tissulaire et autres	France	GREENTECH SA	Première production de polymère protéique structure humaine ; modification correcte obtenu par co-transformation avec une enzyme de modification	64

## Chapitre 3 L'application de la technologie dans le domaine pharmaceutique et commerciale

### 3.4.2. Facteurs de croissance, hormones et cytokines

#### 3.4.2.1. Définition

**Le facteur de croissance** : est une substance naturelle capable de stimuler la croissance, la prolifération et la différenciation cellulaire ; c'est principalement une protéine ou une hormone stéroïde (<https://fr.wikipedia.org/wiki/Facteur-de-croissance>).

**Une hormone** est une substance chimique biologiquement active, synthétisée par une cellule glandulaire et sécrétée dans le milieu intérieur où elle circule, agissant à distance et par voie sanguine sur des récepteurs spécifiques d'une cellule cible. Elle transmet un message sous forme chimique et joue donc un rôle de messenger dans l'organisme. (<https://fr.wikipedia.org/wiki/Hormone>).

**Les cytokines** sont des messagers solubles qui assurent les communications entre les cellules du système immunitaire (<https://fr.wikipedia.org/wiki/Cytokine>).

#### 3.4.2.2. Les facteurs de croissances ; les hormones et les cytokines au sein de la molécule farming

Les facteurs de croissance, les hormones et les cytokines représentaient plus de 75 % des ventes totales des biopharmaceutiques en 1998. Les principales molécules dans cette catégorie sont l'érythropoïétine, les colony stimulating factors et l'insuline. Plusieurs hormones et facteurs de croissance ont été exprimés dans le tabac : le GM-CSf, les interférons alpha et bêta, la somatotropine, l'érythropoïétine et l'epidermal growth factor. (Lerouge et al.2003)

- Certaines protéines de cette catégorie seront mentionnées dans le tableau n°08

**Tableau 08 représente les facteurs de croissances ; les hormones et les cytokines à usage pharmaceutique produites dans les plantes transgéniques :**

Protéine	plante	application	réf
<b>Interféron <math>\alpha</math></b>	Tabac	Traitement d'hépatite B et C	13
<b>Interféron <math>\beta</math></b>	Tabac	Traitement d'hépatite B et C	14
<b>GM-CMF</b>	Tabac	Facteur de croissance hémopoïétique dans le traitement de neutropénie	66

## Chapitre 3 L'application de la technologie dans le domaine pharmaceutique et commerciale

Protéine	plante	application	réf
<b>Somato tropine (hGH)</b>	Tabac	Traitement des désordres de croissance	55
<b>Érythro poïéti ne</b>	Tabac	Traitement d'anémie	55
<b>Epider mal Growth Factor (EGF)</b>	Tabac	Contrôle de prolifération cellulaire	17

### 3.4.3. Enzymes

#### 3.4.3.1. Définition

Les enzymes sont des protéines (ou parfois des acides ribonucléiques) dont le rôle est de catalyser les réactions chimiques du vivant. Comme tout catalyseur, une enzyme permet d'augmenter la vitesse d'un processus sans être consommée, donc sans apparaître dans le bilan réactionnel.

(<https://fr.wikipedia.org/wiki/Enzyme>)

#### 3.4.3.2. les enzymes au sein de l'agriculture moléculaire

Ce groupe comprend les hydrolysats, comprenant les glycosides et les protéases. Les oxydoréductases telles que la lacase, une enzyme fongique utilisée pour blanchir les fibres et la biocolle dans les produits du bois (**Hood et al. 2003; Bailey et al. 2004**), représentent une classe distincte d'enzymes industrielles. Enzymes impliquées dans la conversion de la biomasse à des fins de la production d'éthanol comme candidat à l'agriculture moléculaire.

Tous ces produits se distingueront généralement par le fait qu'ils sont utilisés en très grande quantité et doivent donc être fabriqués à très faible coût (**Hood et al. 1999**).

Les obstacles réglementaires tels qu'ils existent aujourd'hui pourraient être un obstacle majeur à sa culture moléculaire car de très grandes surfaces seraient nécessaires. Cela peut nécessiter une déréglementation par les organismes de réglementation fédéraux

## Chapitre 3 L'application de la technologie dans le domaine pharmaceutique et commerciale

ou des réglementations allégées pour ce type de produit en fonction des cotes de sécurité. (woodard ,2004)

- Certaines enzymes seront mentionnées dans le tableau n°09

**Tableau 09 représente les enzymes à usage pharmaceutique produites dans les plantes transgéniques :**

<b>protéine</b>	<b>Plante hôte</b>	<b>Application et spécificité</b>	<b>réf</b>
<b>Trichosanthine</b>	<b>tabac</b>	<b>Inhibe la réplication du VIH</b>	<b>38</b>
<b>Enzyme de conversion et de l'angiotensine</b>	<b>Tabac</b> <b>tomate</b>	<b>Hypertension</b>	<b>55</b>
<b>Lipase gastrique de chien</b>	<b>tabac</b>	<b>Mucoviscidose</b>	<b>16</b>
<b>Protéine C</b>	<b>tabac</b>	<b>Anticoagulant</b>	<b>2</b>
<b>Glucocérébrosidase</b>	<b>tabac</b>	<b>Maladie de Gaucher</b>	<b>10</b>

### 3.5. Autres protéines d'intérêt médical

Les plantes ont été utilisées pour produire plusieurs autres protéines avec applications médicales indirectes. Il s'agit notamment du lait protéines  $\beta$ -caséine et lysozyme, qui pourraient être utilisées pour améliorer la santé des enfants et les polymères protéiques qui pourrait être utilisé dans la chirurgie et le remplacement des tissus. Les premières expériences avec des polymères artificiels à base d'élastine bovine fournies un décevant rendement, même si les niveaux d'ARNm étaient élevés, ce qui indiquait une synthèse protéique inefficace. Plus récemment, il a été démontré que le collagène humain peut être produit dans les plants de tabac transgéniques et que la protéine est spontanément transformée et assemblée dans sa conformation triple-hélicoïdale.

La collagène d'origine végétale avait une faible stabilité thermique en raison du manque de résidus d'hydroxyproline, mais cela a été résolu en coexprimant l'enzyme proline-4-hydroxylase.

## Chapitre 3 L'application de la technologie dans le domaine pharmaceutique et commerciale

A synthétique la soie d'araignée a également été exprimée dans des plantes transgéniques. Des gènes qui ont été modelés sur l'endogène les gènes des protéines de soie de l'araignée *Nephila clavipes* ont été synthétisés en laboratoire et introduit dans le tabac et la pomme de terre. Protéines jusqu'à 100 kDa en taille et avec 90 % d'identité avec la véritable protéine de soie ont été produits dans les feuilles de tabac, les feuilles de pomme de terre et les tubercules de pomme de terre, jusqu'à 2% de la protéine soluble totale. (Lerouge et al.2003)

- Certaines protéines de cette catégorie seront mentionnées dans le tableau n°10
- **Tableau 10 représente des protéines à usage pharmaceutique produites dans les plantes transgéniques**

Proteines	Applications	Plante	Ré f
Hirudine	Anticoagulant	TABAC COLZA	52
Lactoferrine humaine	Antimicrobien	TABAC	53

### 4. Produits sur le marché

Selon Woodard 2004 : il existe des produits sur marché et d'autre produit proche du marché

Voici des exemples sur les 2 catégories

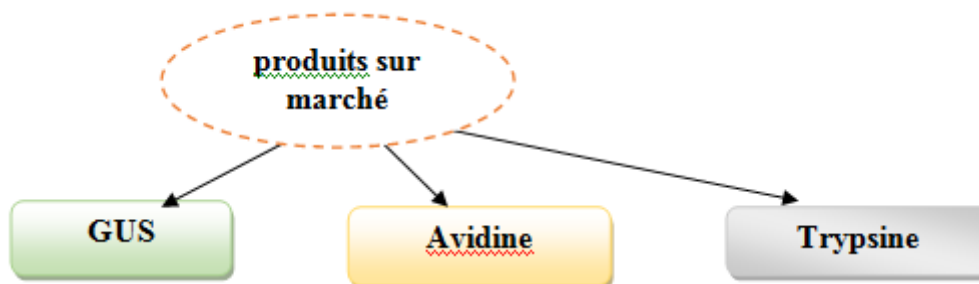


Figure12 : les produits sur marché

#### 4.1. b-Glucuronidase(Gus) :

GUS : est une hydrolase homotétramère (68 kDa/sous-unité) qui clive les acides glucuroniques terminaux à liaison bêta en mono et oligo-saccharides et phénols. GUS est

## Chapitre 3 L'application de la technologie dans le domaine pharmaceutique et commerciale

---

largement utilisé comme un marqueur visuel dans la recherche sur les plantes transgéniques. Elle a été d'abord signalée comme étant un produit commercialement dans le maïs transgénique. **(Kusnadi et al. 1998, Witcher et al. 1998)**

Ses propriétés ont été comparées aux GUS extraites d'*Escherichia coli*, la source originale de la protéine. Les poids moléculaires étaient identiques, de même que leurs antigènes qualités Ki et pI. Leurs valeurs Km étaient presque identiques (0,20 vs 0,21) et leurs valeurs Vmax pour le substrat MUG (4-methylumbelliferyl-b-d-glucuronide) ont également été assez similaire (2,9 10<sup>5</sup> nM/h pour les dérivés du maïs vs 2.2 10<sup>5</sup> nM/h pour *E. coli* dérivé). Les séquences des deux gènes étaient similaires, à l'exception du plus N terminal acide aminé. On a supposé que la suppression de l'acide aminé terminal dans les plantes était le résultat du N terminal règle en action. **(Hirel et al. 1989)**

Le GUS dérivé du maïs a été commercialisé par Sigma-Aldrich **(woodard ,2004)**

### 4.2. Avidin :

L'avidine est une glycoprotéine présente chez les oiseaux, les reptiles et le blanc d'œuf d'amphibien. Il est principalement utilisé comme réactif de diagnostic. La protéine est composée de quatre sous-unités identiques, de 128 acides aminés chacune. La source habituelle pour la quantité commerciale d'avidine provient d'œufs de poule blanche mais le produit résultant est relativement cher en raison du coût de l'entretien des animaux vivants. **(Hood et al. (1997)**

Ont signalé la production d'avidine de blanc d'œuf de poule en maïs trans-génique utilisant un gène d'avidine dont la séquence avait été optimisée pour l'expression dans le maïs. **(Woodard ,2004)**

L'avidine Obtenu avait des propriétés presque identiques à celles de l'avidine issue de partir de blanc d'œuf de poule. Le ph, Ki et les propriétés antigéniques étaient identiques. Les dérivés du maïs et les avidine dérivée d'œufs de poule ont été glycosylées. Tandis que les apoprotéines d'avidine étaient identiques, la taille de l'avidine des dérivés du maïs était légèrement inférieure à l'avidine dérivée des œufs de poule (16,8 vs 17,6 kDa) en raison d'une glycosylation moins complexe composition **(M. Bailey, observations inédites).**

## Chapitre 3 L'application de la technologie dans le domaine pharmaceutique et commerciale

---

Cette différence n'a pas modifié l'activité de liaison de la maturité protéique. Taux d'expression de l'avidine dérivée du maïs supérieur à 20 % Des TSP (total soluble protein) ont été observées (**Masarik et al. 2003**).

Des méthodes de traitement ont été développées pour extraire et purifier ce nouveau produit à partir de maïs transgénique (**Kusnadi et al. 1998**).

Ce produit est actuellement en vente par Sigma-Aldrich (#A8706 ; **Sigma-Aldrich, St. Louis, mo**)

### 4.3. Trypsin :

La trypsine est une protéase utilisée dans une variété d'applications commerciales, y compris le traitement de certain produit bio-pharmaceutiques disponible.

La trypsine bovine dérivée du maïs contribue à la croissance de l'offre marchée des réactifs sans animaux. Ce marché continue d'être motivé par le désir des sociétés pharmaceutiques d'éliminer les matières animales et de réduire les inquiétudes concernant la contamination des produits par des virus et des prions de mammifères.

La trypsine est une enzyme anti-protéolytique. Bien que la trypsine ait été exprimée dans une variété de systèmes recombinants, aucun de ces systèmes n'a été démontré comme étant largement viable commercialement. Expression Cette enzyme est présente à des niveaux commercialement viables dans le maïs (**Woodard et al. 2003**)

L'enzyme se présente sous la forme d'un zymogène inactif. Bien que le gène du zymogène ait été placé dans des plantes et que l'enzyme active ait été récupérée dans des extraits de graines de maïs (**Woodard et al,2004**). Immédiatement après l'extraction de la farine de la graine.

La trypsine dérivée du maïs purifiée qualitativement avait une activité de 175 unités/mg de protéine, ce qui se compare bien à la trypsine dérivée du pancréas bovin (166 unités/mg de protéine). Il n'y avait aucune différence apparente entre les deux provenant d'une variété de caractéristiques de performance, y compris la quantité et le pH optimaux. Pour autant que nous le sachions, l'atome de trypsine (TrypZean) est la première protéine à large spectre produite pour la technologie des plantes transgéniques. (**woodard ,2004**)

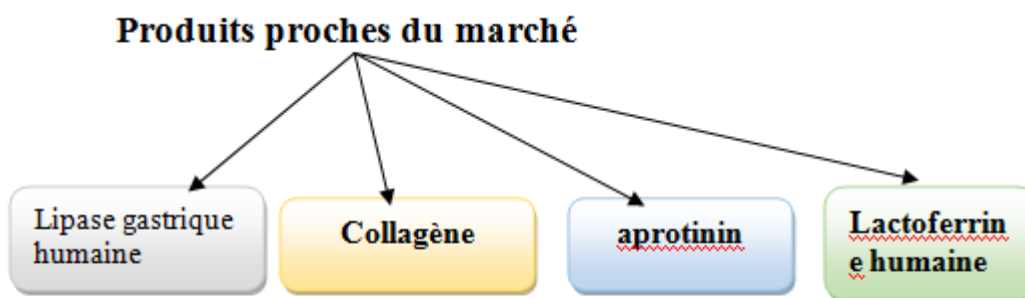
- Certaines protéines de cette catégorie seront mentionnées dans le tableau n°11
- Tableau 11 représente des produit sur le marcher à usage pharmaceutique produites dans les plantes transgéniques :**

## Chapitre 3 L'application de la technologie dans le domaine pharmaceutique et commerciale

Produit	Plantes hôtes	usage	Sociétés	Cible d'expression	subcellulaire	réf
Avidin	Maïs	Réactif immunologique	ProdiGene	Des graines	Apoplast	21
Produit	Plantes hôtes	usage	Sociétés	Cible d'expression	subcellulaire	réf
Gus	Brassica	Réactif de diagnostic	ProdiGene	Des graines	Corps pétroliers	238
	RIZ	Intermédiaire pharmaceutique	ProdiGene		CULURES EN SUSPENSION DE CELLULES DE RIZ	73

### 5. Produits proches du marché

La 2ème catégorie du produit produit par la molécular farming est les produits proches du marché (Woodard, 2004)



**Figure 13** : produits proches du marché

#### 5.1. Lipase gastrique humaine

## Chapitre 3 L'application de la technologie dans le domaine pharmaceutique et commerciale

---

La lipase gastrique humaine est une protéine impliquée dans la condition connue sous le nom d'insuffisance pancréatique exocrine (PEV). L'absence de lipase entraîne l'incapacité pour digérer les lipides alimentaires.

La maladie touche principalement les patients qui ont la mucoviscidose ou qui souffrent de maladie du pancréas. L'approvisionnement actuel en lipase gastrique est du tissu pancréatique porcin.

Meristem Therapeutics (Clermont-Ferrand, France) fait avancer un produit dérivé du maïs lipase de mammifère par des essais cliniques. Très peu a été publié sur ce produit mais il est décrit sur le site Web de la société (<http://www.meristem-therapeutics.com>). La production de lipase gastrique canine produite en du tabac transgénique a été signalé (Gruber et al. 2001).

### 5.2. Collagène

Le collagène est une protéine structurelle actuellement extraite de sabots et tissus conjonctifs des animaux. Quantités vastes de collagène sont consommées chaque année dans le monde sous forme de gélatine(Woodard.2004)

En fonction de leurs rôles structurels et Compatibilité dans le corps, le collagène et la gélatine sont biomatériaux couramment utilisés dans le domaine médical, pharmaceutique et les industries cosmétiques(Woodard.2004)

Le collagène est utilisé commercialement dans les domaines des scellements artériels, des greffes osseuses, de la cornée implants, administration de médicaments, incontinence, ingénierie tissulaire (peau et cartilage artificiels) et comme agent viscoélastique supplément(Woodard.2004)

La gélatine est utilisée dans la stabilisation et livraison de vaccins et médicaments, en gélules et gels souples, nutraceutiques et comme expanseurs plasmatiques. Le premier rapport de collagène humain produit dans les plantes était par Ruggiero et al. 2000).

Les auteurs ont inséré le ADNc de collagène fibrillaire 1a3 et a22, qui ensemble code pour la chaîne complète du collagène protal humain, dans le tabac en utilisant *Agrobacterium*, et npt2 comme gène marqueur sélectionnable. La protéine résultante a été organisée en un triple hélice, ce qui était quelque peu surprenant puisque les plantes ne contiennent pas la post-traductionnel spécifique machines nécessaires à l'assemblage du

## Chapitre 3 L'application de la technologie dans le domaine pharmaceutique et commerciale

---

collagène (**Ruggiero et al.2000**). Actuellement, plusieurs entreprises ont fait part de leur intérêt dans la mise sur le marché du collagène humain. (**Woodard et al.2004**)

### 5.3. Aprotinine

L'aprotinine est une protéine qui inhibe les protéases à sérine (y compris la trypsine, la chymotrypsine, la kallikréine et la pepsine). Cette activité est connue pour moduler et diminuer la réponse inflammatoire systémique (SIR) associée à la chirurgie de circulation extracorporelle, qui se traduit par une diminution du besoin de transfusions sanguines (**Woodard.2004**)

Le matériel actuel fourni sur le marché est natif aprotinine extraite de poumons de bovin. Avec la croissance préoccupation concernant l'encéphalopathie spongiforme bovine (ESB) et d'autres agents pathogènes animaux, un prix de marché élevé en la chirurgie et la cicatrisation des plaies, et les limites des sources d'aprotinine, un produit non d'origine animale, à moindre coût et source fiable ajoute une valeur significative à l'utilisateur. Parce que des préoccupations concernant l'ESB, les fournisseurs d'aprotinine sont limitées à sources de matières premières certifiées exemptes d'ESB (**Fisher et al.2000**)

Par conséquent, il existe des limitations d'approvisionnement les avantages de l'utilisation d'une source botanique incluent l'élimination de la peur des agents pathogènes des mammifères au niveau de la matière source. Contrairement au matériel dérivé des poumons de bovin, les plantes ne supportent pas les virus ou prions de mammifères. En outre,l'échelle à laquelle la production céréalière peut être réalisée sera supprimer les limitations de l'approvisionnement en matières premières (**Woodard.2004**)

Aprotinine bovine recombinante de maïs transgénique graine a été signalée pour la première fois **par Zhong et al. (1999)** en utilisant le bombardement de particules. Ils ont rapporté des niveaux d'expression allant jusqu'à 0,068% de TSP d'une ligne qui avait 20 exemplaires du transgène. Des niveaux aussi élevés de 8,9 % de TSP dans le maïs transgénique ont depuis été rapportés par **Delaney et al. (2002)** en utilisant *A.tumefaciens* en tant que vecteur et promoteur préféré des graines conduire un gène d'aprotinine bovine optimisé pour le maïs. Plus loin l'études sur l'extraction et la purification de la bovine protéine du matériel décrit par **Zhong et al. (1999)** qui ont permis de récupérer près de 50 % des transprotéines et un facteur de purification de 280 (**Azzoni et al. 2002**)

### 5.4. Lactoferrine humaine

## Chapitre 3 L'application de la technologie dans le domaine pharmaceutique et commerciale

La lactoferrine humaine est un lait de défense naturel liant le fer protéine qui possède prétendument des propriétés antibactériennes, antifongiques, anti-viral, anti- néoplasique et anti-inflammatoire (**Samyn-Petit et al. 2001**). Chaque lactoferrine naturelle molécule a deux domaines de liaison au fer, qui lier de manière réversible le fer. La forme bovine est facilement disponible, bien que les niveaux de lactoferrine soient assez faibles chez les vaches le Lait. La lactoferrine humaine recombinante a été produite chez *Aspergillus sp.* À partir de laquelle des niveaux adéquats pour les produits pharmaceutiques objectifs ont été obtenus (**Conneely et al.2001**). La lactoferrine aurait été produite pour la première fois en cellules en suspension de tabac par **Mitra et Zhang (1994)**. Bien que la protéine ait des propriétés de lactoferrine et activité, il a été tronqué. Ventria (**Sacramento, Californie**) et Meristem Therapeutics tentent maintenant de commercialiser la lactoferrine à partir de graines de riz et de maïs, respectivement (**Samyn-Petit et al. 2001 ; Nandi et al. 2002 ; Legrand et al. 2003**).

**Tableau12** représente des produit proche du marcher à usage pharmaceutique produites dans les plantes transgéniques

Produit	Plantes hôtes	Usage	société	réf
Lipase gastrique humaine	Maïs	Insuffisance pancréatique exocrine, stéatorrhée, fibrose kystique	Meristem Therapeutics	7
aprotinin	Maïs	Réduire le SIR et les saignements,	ProdiGene, Biologie à grande échelle	78
collagen	Tabac	Capsules de gel, scellant pour la peau, traitement des cicatrices	ProdiGene, Medicago, Meristem Thérapeutique	62
Lactoferrine humaine	Riz, tomate	Protéine de défense naturelle contre les infections, fer dépôt	Ventria, Meristem Therapeutics	2

# Conclusion général

La perspective d'avoir accès à une plus vaste gamme de médicaments à moindre coût séduit beaucoup de personnes.

Jusqu'à récemment, la large utilisation de ces médicaments moléculaires était limitée par la difficulté de produire ces protéines en dehors des animaux ou des cultures de cellules animales. Les plantes ont démontré dans les années 1990 que de nombreux médicaments moléculaires pouvaient être synthétisés dans les plantes via l'agriculture moléculaire. L'objectif de cette technique est de produire des médicaments plus sûrs, plus faciles à produire et aussi moins chers que ceux produits à partir d'animaux ou de cultures microbiennes. Cette technique a été testée avec succès sur plusieurs types de protéines recombinantes fonctionnels tel que l'insuline, les anticorps et le vaccin.

# **Annexe**

# Annexe 1 :L’agriculture moléculaire face à le covid

Parmi les vaccins actuellement requis sur le marché mondial : se trouve un vaccin contre le virus Corona.

### *Esk la moléculatur est une nouvelle arme de la guerre contre la covide ?*

- Le SARS-Covid 2 a provoqué la propagation du virus Covid-19 qui a balayé tous les pays.
- L'intensité et la vitesse de propagation des virus nécessitent l'utilisation de tous les moyens pour mettre fin à cette épidémie et trouver des solutions pour l'éliminer.
- Comme les virus précédents, le vaccin est l'une des solutions d'immunisation et de guérison
- La moléculair farming représente un vaste espoir et une technologie efficace pour trouver le vaccin approprié en raison de ses avantages en cas de produire des molécules à faible coût ainsi qu'une polyvalence de produits et une capacité de production rapide. C'est pourquoi l'Académie d'agriculture de France souhaite encourager l'usage des plantes pour développer de nouveaux programmes de recherche en biotechnologie.
- Très récemment, deux sociétés biopharmaceutiques Kentucky BioProcessing (KBP ; basée à Owensboro, Kentucky, Etats-Unis) et Medicago (basée à Québec, Canada) ont fait état de leurs travaux sur le développement chez *Nicotiana benthamiana*, une plante modèle pour l'expression de protéines recombinantes, de vaccins potentiels contre le SARS-CoV-2.
- les chercheurs de KBP ont cloné certains gènes du SARS-CoV-2 en utilisant des copies ADN de l'ARN génomique codant les protéines structurales du virus. Ces protéines induisent une réponse immunitaire protectrice via la production d'anticorps spécifiques. Ces copies ADN ont ensuite été introduites dans des cellules de plantes de *Nicotianabenthamiana* selon une méthode de biologie végétale nommée « agroinfiltration » aboutissant à l'expression transitoire d'un ou plusieurs gènes d'intérêt. Cette méthode est nommée ainsi, car elle recourt à l'introduction de la bactérie *Agrobacterium tumefaciens* de manière mécanique dans les tissus d'une plante hôte qui conduit, sans transgénèse, à l'expression des copies d'ADN dans les cellules des feuilles. Cela permet de réduire le temps de développement de plusieurs mois à quelques semaines.

## Annexe

---

- la société canadienne Medicago , elle aussi, initié un programme de recherche pour développer un vaccin potentiel contre le SARS-Cov-2 3. La stratégie utilisée repose sur l'obtention de particules pseudo-virales (PPV) qui constituent une voie privilégiée pour le développement de vaccins. En effet, ces structures particulières, dont l'organisation ressemble à celle d'un virion, sont reconnues plus efficacement par le système immunitaire.
- cette société espère pouvoir bientôt produire des anticorps humanisés qui permettront de traiter par injection les patients déjà atteints.
- L'entreprise vise une production en masse à même de faire face à la pandémie de Covid-19.
- des chercheurs mexicains travaillent actuellement à l'élaboration d'un vaccin contre le SARS-CoV-2 à partir d'une plante comestible (edible vaccine), de tomates génétiquement modifiées 6 (Rosales-Mendoza et al., 2020).
- l'Union européenne vient également de se lancer dans la bataille contre le SARS-CoV-2 en finançant le projet *Newcotiana H20207*
- **Des virus végétaux utilisés contre le SARS-CoV-2 :**
  - Les virus infectant les plantes pourraient aussi servir de plateformes stables et efficaces pour le vaccin contre le SARS-CoV-2.
  - la méthode est baser sur la transformation de ces virus, inoffensifs chez l'homme et extrêmement stables même à haute température, en leur ajoutant une partie d'un antigène du SARS-CoV-2 afin de déclencher une réponse vaccinale. Ne nécessitant pas de réfrigération pour leur conservation.
  - ces vaccins pourraient être proposés partout dans le monde.
- ❖ **Plusieurs types de vaccins potentiels contre la COVID-19 sont en cours de mise au point, notamment :**
  - Des vaccins inactivés ou vivants atténués contenant une forme inactivée ou atténuée du virus qui ne peut pas causer de maladie mais qui entraîne tout de même une réponse immunitaire.
  - Des vaccins à base de protéines, qui contiennent des fragments inoffensifs de protéines ou d'enveloppe protéique qui imitent le virus de la COVID-19 pour entraîner une réponse immunitaire en toute sécurité.
  - Des vaccins à vecteurs viraux qui contiennent un virus inoffensif qui ne peut pas causer de maladie mais qui sert de plateforme pour la production de protéines du coronavirus afin de générer une réponse immunitaire.

## Annexe

---

- Des vaccins à ARN et à ADN, mis au point selon une méthode de pointe consistant à utiliser un ARN ou un ADN génétiquement modifié pour produire une protéine qui entraîne une réponse immunitaire en toute sécurité.

([https://www.who.int/fr/news-room/q-a-detail/coronavirus-disease-\(covid-19\)-vaccines](https://www.who.int/fr/news-room/q-a-detail/coronavirus-disease-(covid-19)-vaccines))

### ❖ **Les vaccins "Covid-19" les plus connus actuellement et les plus disponibles :**

**Vaccin de l'Institut Esthétique Russe : Sputnik V :** Le vaccin russe est basé sur des vecteurs d'adénovirus, et les adénovirus humains sont parmi les plus faciles et les plus simples à modifier, et donc leur prévalence en tant que vecteurs a augmenté.

Les « vecteurs » sont des vecteurs qui peuvent transférer du matériel génétique d'un autre virus à une cellule. Le matériel génétique de l'adénovirus responsable de l'infection est supprimé, tandis que le gène porte un code qui "code" pour une protéine d'un autre virus, et dans le cas actuel du virus corona émergent. Ce nouvel ingrédient ajouté aide le système immunitaire à réagir et à produire des anticorps qui le protègent des infections.

**Vaccin AstraZeneca-Oxford :** La technique qu'il utilise est le "vecteur viral", dans lequel il utilise un autre virus, moins virulent, qui est converti pour être ajouté à une partie du virus Corona, et le virus modifié est introduit dans les cellules des individus, qui produisent à leur tour une protéine typique pour "SARS Cove 2", qui inciterait leur système immunitaire à la reconnaître.

**Vaccin Pfizer-Biontech :** Développé par la société américaine Pfizer et son partenaire allemand BioNTech, il fonctionne sur la technologie de l'ARN messenger, ou ARNm, une molécule qui indique à nos cellules ce qu'elles doivent fabriquer. Ce vaccin est injecté dans le corps, et il introduit cette molécule qui contrôle le mécanisme de fabrication d'un « pic » d'antigène de coronavirus spécifique, une pointe très spéciale à sa surface qui lui permet de se coller aux cellules humaines pour la pénétration. Ce pic sera alors détecté par le système immunitaire, qui produira les anticorps, et ces anticorps resteront un certain temps.

**Vaccin Moderna :** Ce vaccin a été développé par la société américaine Moderna, et le vaccin de Moderna utilise la même technologie « ARN messenger » que le vaccin Pfizer-Biontech.

## Annexe

---

**Vaccin de la société Novavax :** Le vaccin a été développé par la société américaine Novavax. Il consiste à insérer un gène modifié dans un virus appelé virus bactérien (baculovirus) et à lui permettre d'infecter des cellules d'insectes, puis les protéines de pointe de ces cellules ont été assemblées en nanoparticules, qui, bien qu'elles ressemblent au virus Corona, mais elle ne peut pas se reproduire ou provoque la COVID-19.

Ces nanoparticules sont injectées dans l'organisme par le vaccin, où elles déclenchent la formation du système immunitaire en réponse à l'anticorps. Et si le corps rencontre le virus Corona à l'avenir, le système immunitaire pourra le repousser.

**Vaccin Johnson & Johnson :**Le vaccin, développé par la société américaine "The Johnson & Johnson", est basé sur un adénovirus modifié - un virus courant qui provoque des symptômes semblables à ceux du rhume - qui est conçu pour transférer des parties du matériel génétique de la protéine "spike" présente dans le virus Corona.

**Vaccin de la société Sinopharma :** Développé par la société chinoise Sinopharm, et s'appuie sur un virus « inactif » inactivé, et Sinopharm l'a développé en coopération avec l'Institut de virologie de Wuhan et l'Institut des produits biologiques. Dans la technologie des vaccins inactivés, les agents infectieux du virus corona émergent sont traités - chimiquement ou par la chaleur - pour réduire son risque, tout en conservant sa capacité à produire une réponse immunitaire, et c'est la forme de vaccination la plus traditionnelle

✚ En regardant les vaccins existants, nous pouvons dire que cette technique n'a pas été réellement appliquée pour trouver le vaccin attendu

Mais la plupart des entreprises cherchent à l'exploiter, en raison des avantages et de l'efficacité mentionnée précédemment avec un gain de temps, d'autant plus que le virus fait toujours des centaines de morts...

### CONCLUSION GENERALE :

**A la fin on peut dire que :**

L'agriculture moléculaire vise à offrir aux industries pharmaceutiques des alternatives aux systèmes de production actuels, et doit faire face aux résistances aux changements de certains laboratoires pharmaceutiques. Cette

## **Annexe**

---

résistance devrait s'estomper au fur et à mesure que les tests cliniques des premiers composés recombinants d'origine végétale progressent.

De nombreuses entreprises, grandes ou petites, se sont lancées dans ce qu'on appelle « l'agriculture moléculaire ». Au premier plan à la demande croissante de molécules thérapeutiques, leur production à partir de plantes a été envisagée dans le but de réduire les coûts, de diversifier les produits et la capacité de production réponse rapide aux urgences épidémiques ou aux actes de bioterrorisme.

L'industrie de « l'agriculture moléculaire » est en plein essor et certaines entreprises disposent d'installations agréées conformes aux normes GMP, leur permettant de répondre aux exigences réglementaires strictes de l'industrie pharmaceutique.

# Les références bibliographie

1. **Aline Heslouis et al.** (2009) : Purification par chromatographie en lit expansé (De protéines recombinantes produite par cellule de tabac
2. **Andersen and Krummen**, (2003); Chadd and Chamow, 2001; Fischer and Emans, 2000): Plant molecular farming: systems and products.
3. **Arakawa T, Chong DK, Langridge WH.** (1998): Efficacy of a food plant-based oral cholera toxin subunit vaccine. *Nat Biotechnol* ;page 1
4. **Arakawa T, Yu J, Langridge WH,** (1999): Food plant-delivered cholera toxin B subunit for vaccination and immunotolerization. *Adv Exp Med Biol* ; page 1 -2.
5. **Arianne Bouchard Ganon** ;(2006) : Caractérisation biologique d'un virus isolé chez la luzerne. INRS Institut Armand-Frappie. Université du Québec.
6. **Barta, A. et al.** (1986): The expression of a nopaline synthase human growth hormone chimaeric gene in transformed tobacco and sunflower callus tissue. *Plant Mol. Biol.* 6
7. **Beachy RN.** (1996): Use of plant viruses for delivery of vaccine epitopes. In engineering plant for commercial products and applications. *Ann NY Acad Sci*; 25: 43-9.
8. **Chong, D. K. X. et al.** (1997): Expression of the human milk protein  $\beta$ -casein in transgenic potato plants. *Transgenic Res.*
9. **Covid-19** : des vaccins et des traitements issus des biotechnologies végétales sont à l'étude ; (12 mai 2020). Communication de l'Académie d'agriculture de France Section des Sciences de la vie.
10. **Cramer CL, Weissenborn DL, Oishi KK et al.** (1996):Bioproduction of human enzymes in transgenic tobacco. *Ann N Y Acad* ; 792 : 62-71
11. **Dalichaouche Imane** ;(2019): Cours de biotechnologie. Département de Biochimie et biologie cellulaire et moléculaire. Faculté des sciences de la nature et de la vie. Université Constantine 1.
12. **Daniell H. Et al.** (2000): Medical molecular farming production of antibodies, biopharmaceuticals and edible vaccines in plants.*Trends in Plant Science.*6219-226.
13. **De Zoeten GA, Penswick JR, Horisberger MA et al.** (1989):The expression, localization, and effect of a human interferon in plants. *Virology* ; 172 : 213-22.

## Références Bibliographique

---

14. **Economiesuisse** ;(2005) : Le génie génétique dans l'agriculture et l'alimentation Une technologie clé pour le futur.
15. **-Fernandez-San Millan, A., Mingo-Castel, A., Miller, M. & Daniell, H.** (2003): A chloroplast transgenic approach to hyperexpress and purify human serum albumin, a protein highly susceptible to proteolytic degradation. *Plant Biotechnol.* 1. 77–79
16. **Georges Freyssinet** ;(2004) : De la Pharmacopée traditionnel a la moléculture.
17. **-Goddjin OJM, Pen J.** (1995): Plants as bioreactors. *Trends Biotechnol* ; 13 :379-87.
18. **Hartinio N. Nahampun,** (2015): Plant molecular farming for the production of industrial enzyme and vaccines. Iowa State University.
19. **-Henry Daniell et al.** (2003): A chloroplast transgenic approach to hyper-express and purify Human Serum Albumin, a protein highl susceptible to proteolytic degradation. *Plant Biotechnology Journal.*
20. **Hiatt, A., Cafferkey, R. & Bowdish, K.** (1989): Production of antibodies in transgenic plants. *Nature* 342.
21. **Holger Spiegel, Et al.**(2018): Current Status and Perspectives of the Molecular Farming Landscape
22. **Hood et al (2003)**: Criteria for high-level expression of a fungal laccase gene in transgenic maize, *Plant Biotechnology Journal*, pp. 129Ð140.
23. **Hood et al. (1997)**: Commercial production of avidin from transgenic maize: characterization of transformant, production, processing, extraction and purification. *Molecular Breeding* 3: 291–306.
24. <http://www.agriculture.gouv.fr>
25. [http://www.ogm.gouv.qc.ca/information\\_generale/utilisations\\_potentielles\\_ogm/vegetaux\\_gm/molecule\\_vegetale.html](http://www.ogm.gouv.qc.ca/information_generale/utilisations_potentielles_ogm/vegetaux_gm/molecule_vegetale.html)
26. <http://www.urpjournals.com>
27. <https://fr.wikipedia.org/wiki/Enzyme>
28. <https://fr.wikipedia.org/wiki/Facteur-de-croissance>
29. <https://fr.wikipedia.org/wiki/Hormone>
30. [https://fr.wikipedia.org/wiki/Prot%C3%A9ine\\_plasmatique](https://fr.wikipedia.org/wiki/Prot%C3%A9ine_plasmatique)
31. <https://inspection.canada.ca>
32. <https://inspection.canada.ca/varietes-vegetales/vegetaux-a-caracteres-nouveaux/grand-public/mv/fra/1337444001505/1337444120102>

## Références Bibliographique

---

33. <https://inspection.canada.ca/varietes-vegetales/vegetaux-a-caracteres-nouveaux/grand-public/mv/fra/1337444001505/1337444120102>
34. <https://lib.dr.iastate.edu/etd/14962>
35. <https://www.who.int/fr/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/covid-19-vaccines>
36. **Julian K-C.Ma , Pascal M.W.Drake ,and Paul Christou ;**(2003) : The production of recombinant pharmaceutical protein in plants . [www.nature.com/reviews/genetics](http://www.nature.com/reviews/genetics), VOLUME 4 -794.
37. **Kafeel Ahmad;** (2014):Molecular Farming: Strategies, Expression Systems and Bio-Safety Considerations. Czech J. Genet. Plant Breed.
38. **Kaoutar Skiredj** (2008) : Production de l'insuline humanisée A partir des graines de carthame Génétiquement modifié. Faculté de médecine et de pharmacie de RABAT. université Mohamed 5.
39. -La production de molécules thérapeutiques par les plantes et perspectives de vaccins contre la COVID-19 (11 juin 2020).
40. Lerouge, V. Gomord, L. Faye.(2003) : Vers la production dans les plantes transgéniques de protéines à usage pharmaceutique, Métabolismes Hormones Diabètes et Nutrition (VII), no 2.
41. **M. E. Horn, S. L. Woodard, J. A. Howard;** (2004): Plant molecular farming: systems and products. *Plant Cell Rep* 22:711–720.
42. **Ma SW, Zhao DL, Yin ZQ, et al.** (1997) : Transgenic plants expressing autoantigens fed to mice to induce oral immune tolerance. *Nat Med* 1997 ; 3 : 793-6.
43. **Ma, J.K. et al.** (1995): Generation and assembly of secretory antibodies in plants. *Science* 268, 716–719
44. **Khoudi, H. et al.** (1999): Production of a diagnostic monoclonal antibody in perennial alfalfa plants. *Biotechnol. Bioeng.* 64 135–143
45. **Marc Tschofen, et al.** (2016): Plant Molecular Farming:Much More than Medicines . *Review in Advance.*
46. **Marie-France Huot ;**(2003) :L'agriculture moléculaire végétale : une évaluation des enjeux et des défis pour la réglementation canadienne. Bibliothèque nationale du Québec.
47. **Mason, H. S., Lam, D. M. K. & Arntzen, C. J,** (1992): Expression of hepatitis B surface antigen in transgenic plants. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 89.

## Références Bibliographique

---

48. **McCormick, A. et al.** (1999): Rapid production of specific vaccines for lymphoma by expression of the tumor-derived single-chain Fv epitopes in tobacco plants. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 96, 703–708
49. **McGarvey PB, Hammond J, Dienelt MM, et al.**(1995): Expression of the rabies virus glycoprotein in transgenic tomatoes. *Bio/Technology*1995 ; 13 : 1484-7.
50. **Mohamed Amine Badri** ;(2006): Intégrité structurale et effet métabolique d'une isoforme d'aprotinine bovine exprimée dans la pomme de terre, le solanium tuberosomum (L.). Département de psychologie. Faculté des sciences agronomiques et alimentaires. Université Laval Québec
51. **-Moloney, M., Boothe, J. & Van Rooijen, G.** (2003): Oil bodies and associated proteins as affinity matrices. *US Patent*6, 509,453
52. **Olawole O. Obembe, et al.** (2011): Advances in plant molecular farming. *Biotechnology Advances.*
53. **P. Lerouge, et all.** (2003) : Vers la production dans les plantes transgéniques de protéines à usage pharmaceutique. *Métabolismes Hormones Diabètes et Nutrition* (VII). no 2.
54. **Parmenter DL, Boothe JG, van Rooijen GJ, Yeung EC, Moloney MM.** (1995) : Production of biologically active hirudin in plant seeds using oleosin partitioning. *Plant Mol Biol* ; 29 : 1167-80.
55. **Parmeshwar Ku. Sahu, et al.** (2014):Molecular Farming: A biotechnological approach in agriculture for production of useful metabolites. *International Journal of Research in Biotechnology and Biochemistry.* Department of Genetics and Plant Breeding.
56. **Pervin Basaran, Emilio Rodr'iguez-Cerezo** (2008): Plant Molecular Farming: Opportunities and Challenges. *Critical Reviews in Biotechnology.*
57. **Rainer Fischer et Neil Emans.**(2000) : Molecular farming of pharmaceutical proteins. *Transgenic Research* 9: 279–299.
58. **Rainer Fischer, et al.** (2004): Plant-based production of biopharmaceuticals. *Plant Biology.* 7:152–158
59. **Rainer Fischer, Johannes F.Buye**(2020): Molecular farming – The slope of enlightenment. *Biotechnology Advances.* 40.107519.
60. **Richard M. Twyman, et al.** (2003) : Molecular farming in plants: host systems and expression technology. *TRENDS in Biotechnology.* Vol.21 .No.12

## Références Bibliographique

---

61. **Richter LJ, Thanavala Y, Arntzen CJ, Mason HS.**( 2000) : Production of hepatitis B surface antigen in transgenic plants for oral immunization. *Nat Biotechnol*;page 2-4.
62. **Ruggiero, F. et al.** (2000) : Triple helix assembly and processing of human collagen produced in transgenic tobacco plants. *FEBS Lett.* 469.
63. **Sijmons PC, Dekker BM, Schrammeijer B et al.** (1990) : Production of correctly processed serum albumin in transgenic plants. *Bio/Technology* ; 8 : 217-21.
64. **Staub JM, Garcia B, Graves J et al.** (2000)High-yield production of a human therapeutic protein in tobacco chloroplasts. *Nat Bio Technol* ; 18 : 333-8.
65. **Stefan schillberg ; Neil Emans & Rainer Fischer.** january (2002) : Antibody molecular farming in plants & plant cells, 45-54
66. **Stoger, E. et al.** (2000) : Cereal crops as viable production and storage systems for
67. **Tackaberry ES, Dudani AK, Prior F, et al.**(1999) Development of biopharmaceuticals in plant expression systems : cloning, expression and immunological reactivity of human cytomegalovirus glycoprotein B (UL55) in seeds of transgenic tobacco. *Vaccine* 1999 ; 17 : 23-4..
68. **Thanavala, Y., Yang, Y.-F., Lyons, P., Mason, H. S. &Arntzen,** (1995) : Immunogenicity of transgenic plant-derived hepatitis B surface antigen *Proc. Natl Acad. Sci. USA*
69. **Torres, E. et al.** (1999):Rice cell culture as an alternative production system for functional diagnostic and therapeutic antibodies. *Transgenic Res.* 8, 441–449
70. **Turpen TH, Reindl SJ, Charoenvit Y, Hoffman SL, Fallarme V, Grill LK;**(1995) Malarial epitopes expressed on the surface of recombinant tobacco mosaic virus. *Bio/Technology* ; page 7.
71. **Vaquero, C. et al.** (1999): Transient expression of a tumor-specific single-chain fragment and a chimeric antibody in tobacco leaves. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 96, 11128–11133
72. **Verch, T. et al.** (1998): Expression and assembly of a full-length monoclonal antibody in plants using a plant virus vector. *J. Immunol. Methods*
73. **Véronique Bougie** ; (2004) : Le virus de la mosaïque du navet comme vecteur pour l'expression des protéines hétérodimériques. INRS Institut Armand-Frappie. Université du Québec.
74. **Walmsley A.M.et Arntzen C.J.**(2000): Plants for delivery of edible vaccines. *Curr Opin Biotechnol.*11.126-129.

## Références Bibliographique

---

75. **Wigdorovitz A, Carrillo C, Dus Santos MJ, et al.**( 1999) :Induction of a protective antibody response to foot and mouth disease virus in mice following oral or parenteral immunization with alfalfa transgenic plants expressing the viral structural protein VP1. *Virology* ; page 1
76. **Yao J. et al.** (2015): Plants as Factories for Human Pharmaceuticals: Applications and Challenges.*International journal of molecular science.*
77. **-Zeitlin, L. et al.** (1998): A humanized monoclonal antibody produced in transgenic plants foR immunoprotection of the vagina against genital herpes. *Nat. Biotechnol.* 16, 1361–1364
78. **Zhong GY, Peterson D, Delaney DE et al.** (1995): Commercial production of aprotinin in transgenic maize seeds. *Mol Breeding*; 5: 345-56.

### Résumé

Il y a 20 ans, la technologie de l'agriculture moléculaire est apparue, ce qui a entraîné une nouvelle révolution scientifique pour ce qu'elle a pu réaliser

elle repose sur le principe de faire un changement au niveau du matériel génétique de la plante puis de fabriquer la protéine recombinante à atteindre, le tout en peu de temps à un faible coût en échange d'un gros profit et en obtenant un grand rendement .

Les plantes génétiquement modifiées, qui sont considérées comme une offre alléchante sur le marché de la production et de la fabrication, ont été contestées par le public, d'autant plus que cette technologie est appliquée directement dans les champs, ce qui met en danger la santé humaine car la culture peut être destinée à la consommation publique. Ou être exposé à des polluants résultant de l'application de cette technologie, surtout s'il s'agit de complaisance dans les applications de sécurité

D'une manière générale, cette technologie a pu bénéficier de la fabrication de molécules d'importance pharmaceutique importante, qui sont utilisées dans divers domaines médicaux, comme les vaccins et les hormones... En attendant des résultats étonnants pour cette technologie dans le futur.

### ملخص

منذ 20 سنة ظهرت تقنية الزراعة الجزيئية والتي أحدثت ثورة علمية جديدة لما استطاعت تحقيقه حيث تعتمد على مبداء احداث تغيير على مستوى المادة الوراثية للنبات ومن ثم تصنيع البروتين المؤلف المراد الوصول اليه كل ذلك في ظرف قصير بتكلفة منخفضة مقابل ربح كبير والحصول على كمية عالية من المنتج.

النباتات المعدلة وراثيا والتي تعتبر عرضا مغريا في سوق الإنتاج والتصنيع لاقت اعتراضا من طرف العامة خاصة كون هذه التقنية تطبق في الحقول مباشرة وهو ما يعرض صحة الانسان للخطر كون المحصول يمكن له ان يوجه للاستهلاك العام او ان يتعرض لملوثات ناتجة عن تطبيق هذه التقنية خاصة إذا تم التهاون في تطبيقات السلامة

بشكل عام استطاعت هذه التقنية الإفادة بتصنيع جزيئات ذات أهمية صيدلانية هامة والتي تستعمل في مختلف المجالات الطبية من لقاحات و هرمونات.... في انتظار نتائج واعدة لهذه التقنية مستقبلا.

# ABSTRACT

20 years ago, the molecular farming technology appeared, which brought about a new scientific revolution for what it was able to achieve, as it relies on the principle of making a change at the level of the genetic material of the plant and then manufacturing the recombinant protein to be reached, all in a short time at a low cost in exchange for a large profit and obtaining a high amount of the product.

Genetically modified plants, which are considered a tempting offer in the production and manufacturing market, have been objected by the public, especially since this technology is applied directly in the fields, which puts human health at risk because the crop can be directed to public consumption or be exposed to pollutants resulting from the application of this technology, especially if it is Complacency in safety applications

In general, this technology was able to benefit from the manufacture of molecules of important pharmaceutical importance, which are used in various medical fields, such as vaccines and hormones.... Awaiting promising results for this technology in the future.