



La production de molécules thérapeutiques par les plantes et perspectives de vaccins contre la COVID-19

11 juin 2020

L'utilisation des plantes comme usines cellulaires pour la production de molécules, au même titre que des bactéries ou des cellules d'insectes ou de mammifères en culture, fut illustrée dès 1989 par la production dans des plantes de tabac transgéniques d'anticorps murins fonctionnels et en 1997 par la production des chaînes polypeptidiques de l'hémoglobine humaine. Depuis, de nombreuses entreprises, grandes ou petites, se sont lancées dans ce qu'on appelle ainsi, la « moléculture » (*Molecular Farming* en anglais, voire *Pharming* quand il s'agit de molécules thérapeutiques). Devant la demande croissante de molécules thérapeutiques, leur production à partir de plantes a été envisagée dans la perspective de coûts réduits, de diversification des produits et d'une capacité de production rapide en réponse à une urgence épidémique ou à des actes de bio-terrorisme.

On dénombre (1) en 2020 36 entreprises et laboratoires publics proposant des métabolites en culture cellulaires comme par exemple : des taxanes, produits par l'if, et précurseurs d'anti-cancéreux ; des enzymes industrielles, α amylase pour la production de biocarburants, phytase pour l'alimentation animale, lactoferrine comme complément alimentaire ; des enzymes thérapeutiques comme la β glucocérébroside produite dans des cellules de carotte pour le traitement de la maladie de Gaucher ou l' α galactosidase dans des cellules de mousse contre la maladie de Fabry ; des peptides comme l'aprotinine dans des plantes de tabac, pour des traitements anti-saignement; des anticorps pour diagnostic et des anticorps thérapeutiques qui n'ont trouvé jusqu'ici de débouché que dans des circonstances exceptionnelles (projet ZMapp de traitement contre le virus Ebola en 2014) ; des vaccins antiviraux contre la peste porcine; des lectines antivirales produites dans des grains de riz transgéniques (la griffitsine provenant d'une algue rouge et la cytovirine provenant de cyanobactéries).

Ce secteur biopharmaceutique a du mal à émerger du fait de sa nouveauté en particulier vis-à-vis des réglementations adaptées aux spécificités des techniques traditionnelles, comme les cultures cellulaires par exemple, et des investissements très lourds de l'industrie qu'il pourrait remettre en cause. Il a également souffert de la réputation sulfureuse, entretenue en particulier en Europe, des cellules et des plantes génétiquement modifiées, que le public n'attribue nullement aux cellules de microorganismes et de mammifères génétiquement modifiées pour la production des mêmes médicaments comme l'insuline produite par la bactérie *Escherichia coli*. Les premières stratégies de production consistaient à utiliser des plantes cultivées, génétiquement modifiées pour cette production. Cette approche s'est heurtée à l'opposition des groupes activistes et à des cas de repousses ou de mélange de semences avec des variétés conventionnelles qui ont conduit à la faillite des acteurs concernés.

Cependant, l'attention a été attirée sur ce secteur lors de l'épidémie du virus Ebola en Afrique de l'ouest où furent utilisés des traitements avec des anticorps monoclonaux contre les glycoprotéines de surface de ce virus, rapidement produits dans des plantes. Cet épisode a montré le potentiel des systèmes de production à partir de plantes mais également leur capacité limitée à l'époque et le manque de lignes réglementaires définies pour le développement de protéines pharmaceutiques dérivées de plantes. Un nombre limité de plateformes de production dans le monde ont obtenu les autorisations pour produire des protéines recombinantes dans des plantes en accord avec les bonnes pratiques de fabrication en particulier aux Etats-Unis.



Pourtant les systèmes à base de plantes entières ou de cellules végétales peuvent être considérés comme intrinsèquement plus sûrs que les systèmes utilisant des cellules animales car indemnes de virus pathogènes pour les mammifères. Par ailleurs, de manière à éviter la glycosylation des protéines produites dans les cellules végétales par des résidus β -1,2-xylose et α -1,3-fucose qui sont spécifiques des plantes, bien qu'il n'y ait pas de données mettant en cause leur sûreté, les plantes hôtes ont été modifiées par mutagénèse chimique, par interférence à ARN et par réécriture (édition) génomique. Par exemple dans le cas de *N.benthamiana*, espèce dérivant de deux génomes ancestraux, deux gènes de β -1,2-xylosyltransferase et 5 gènes de α -1,3-fucosyltransferase ont dû être ainsi inactivés. De plus ces plantes ont pu être complétées par l'insertion de gènes de glycotransférase humaine comme celui de la β -1,4-galactosyltransférase. Dans de nombreux cas des anticorps produits dans des systèmes végétaux ainsi modifiés pour la glycosylation ont montré une meilleure activité biologique que ceux obtenus dans des cellules animales. Le succès commercial de la production de glucocerebrosidase pour le traitement de la maladie de Gaucher tient à son profil de glycosylation riche en mannose, de haute qualité, qui ne peut être obtenu que dans des plantes. *Newcotiana*, un projet européen, lancé en 2018 pour 5 ans et impliquant des entreprises et des centres de recherche de cinq pays européens (Allemagne, Autriche, Belgique, Espagne, Italie), le Royaume-Uni et l'Australie, a récemment rendu publique la séquence du génome de *Nicotiana benthamiana*, et développe par génie génétique les adaptations de cette espèce aux productions de molécules thérapeutiques.

Ces productions de protéines exogènes font appel à l'expression de gènes chimériques où la séquence codante est sous le contrôle d'éléments régulateurs adaptés aux cellules végétales utilisées dans cette production, cellules en culture, parenchyme foliaire, albumen des grains, par exemple.

Ces gènes peuvent être introduits dans le génome du végétal, il s'agit alors de transgénèse. On y parvient essentiellement par deux méthodes. La première repose sur l'utilisation d'une souche d'*Agrobacterium tumefaciens* dans laquelle on a introduit dans l'ADN-T (le fragment d'ADN que cette bactérie transfère dans le noyau de la cellule végétale) le gène chimérique correspondant. La seconde utilise une méthode mécanique, la propulsion de micro billes d'or ou de tungstène enrobées d'ADN à travers le tissu végétal à l'aide d'un dispositif désigné par l'expression imagée de « canon à particules ». On procède ensuite à la sélection des cellules où le transgène s'est intégré dans le génome et à la régénération d'une plante, qui si l'expression du gène est jugée convenable, sera multipliée par reproduction sexuée (tabac, riz...) ou végétative (pomme de terre, lentille d'eau...), ce qui signifie un délai assez long pour une production effective de la molécule. La transgénèse est donc bien adaptée à la production sur la durée d'une même molécule, mais est soumise à des contraintes réglementaires d'isolement en particulier quand la molécule est produite dans des semences. La production doit se réaliser en serre protégée de toute communication avec l'extérieur.

Une autre façon de produire la protéine d'intérêt consiste dans l'expression transitoire du gène chimérique dans la cellule végétale qui par conséquent n'est pas soumise aux contraintes réglementaires des plantes transgéniques. Il y a deux façons d'y parvenir. La première consiste à utiliser un virus végétal dans le génome duquel est inséré l'ARN codant la protéine d'intérêt. La plante est infectée avec ce virus recombinant qui s'y multiplie en même temps que la protéine est produite. Après quelques semaines les plantes sont sacrifiées et la protéine extraite. Cette méthode a permis pour la première fois en 1998 de produire un anticorps monoclonal complet dans des plantes de *Nicotiana Benthamiana* (2). La seconde façon de faire produire de façon transitoire une protéine d'intérêt utilise en effet *A. tumefaciens*. Les bactéries porteuses dans leur ADN T du gène d'intérêt sont cultivées en masse dans un milieu liquide dans lequel les plantes sont immergées, l'ensemble étant soumis pendant quelques instants à une dépression. Ainsi les bactéries envahissent les espaces intercellulaires et peuvent transférer leur ADN T aux noyaux des cellules des feuilles. Les plantes sont replacées en serre où le gène va s'exprimer pendant 5 à 6 jours avant leur récolte, l'extraction de biomasse et la purification de la protéine. Cette méthode offre l'avantage de pouvoir produire



rapidement, en moins de 6 semaines, une nouvelle protéine, d'où son intérêt pour la production d'antigènes vaccinaux pour des maladies émergentes ou dont l'agent infectieux varie d'une année à l'autre comme celui de la grippe saisonnière. Une nouvelle génération de vecteurs d'expression, se basant sur des virus, comprenant des éléments viraux requis pour une forte expression (promoteur fort, terminateurs, enhanceurs et gènes suppresseurs de mise au silence) sont introduits avec le gène d'intérêt dans l'ADN T d'*A. tumefaciens* et permettent après infiltration d'augmenter parfois par un facteur 100 la production de protéines.

Dans le cas de la COVID-19, plusieurs entreprises d'Amérique du nord, Kentucky BioProcessing (KBP) (Owensboro, Kentucky), Ibio CDMO (Bryan Texas) et Medicago (Québec et Raleigh, Caroline du Nord) utilisent l'expression transitoire dans des plantes de *N. benthamiana*. Ayant bénéficié d'un programme de la *Defense Advanced Research Projects Agency* (DARPA) des Etats-Unis en 2009 elles possèdent des équipements de grande capacité, chacune étant en mesure de traiter plusieurs millions de plantes par an, pour fournir des centaines de millions de doses de vaccins potentiels (3).

Les protéines ainsi produites peuvent se présenter sous forme de protéines libres porteuses de motifs antigéniques ou de particules pseudo-virales (*Virus Like Particles*, ou VLP en anglais), constituées de protéines de surface du virus associées à une bicouche lipidique issue de la membrane plasmique de la cellule végétale. Ces particules pseudo-virales miment le virus par leur taille et leurs motifs antigéniques et constituent une approche attrayante pour le développement rapide de vaccins car elles ont un pouvoir immunogène élevé, et un faible coût de production. De telles particules pseudo-virales contre la grippe saisonnière sont en voie de commercialisation au Canada et des similitudes entre la protéine S du coronavirus et la protéine HA de l'influenza ont facilité la conception des protocoles de production de particules pseudo-virales contre la COVID-19.

L'exploitation des cellules végétales offre la possibilité de produire des vaccins peu coûteux et efficaces pour lutter contre la pandémie de COVID-19. Les prochains mois diront quel sera le véritable impact de ces technologies (4).

1. Rainer Fischer and Johannes F. Buyel. Molecular farming – The slope of enlightenment. *Biotechnology Advances* 40 (2020) 107519.
2. Thorsten Verch, Vidadi Yusibov, Hilary Koprowski. Expression and assembly of a full-length monoclonal antibody in plants using a plant virus vector. *Journal of Immunological Methods* (1998) 220, pp. 69–75.
3. Marc-André D'Aoust et al. Influenza virus-like particles produced by transient expression in *Nicotiana benthamiana* induce a protective immune response against a lethal viral challenge in mice. *Plant Biotechnology Journal* (2008) 6, pp. 930–940.
4. Sergio Rosales-Mendoza et al. What Does Plant-Based Vaccine Technology Offer to the Fight against COVID-19? *Vaccines* 2020, 8, 183; doi:10.3390/vaccines80201

Voir aussi le site de l'Académie d'Agriculture de France :

<https://www.academie-agriculture.fr/actualites/academie/le-plan-de-continuite-de-lactivite-de-lacademie-se-focalise-sur-la-crise>

Cette fiche a été conçue et rédigée par la cellule de crise Coronavirus de l'Académie des sciences. Créée à l'initiative de Pascale Cossart, Secrétaire perpétuel de l'Académie, celle-ci réunit des académiciens experts du domaine : Jean-François Bach, Pierre Corvol, Dominique Costagliola, Pascale Cossart (coordinatrice), Patrick Couvreur, Olivier Faugeras, Olivier Gascuel, Daniel Louvard, Eric Moulines, Georges Pelletier, Benoît Perthame, Félix Rey, Philippe Sansonetti, Alain-Jacques Valleron.

Les informations qui figurent sur cette fiche ont été produites collectivement et sont susceptibles d'évoluer. Elles seront éventuellement réactualisées en fonction des avancées des connaissances scientifiques.