

# Les connaissances nécessaires à la biologie industrielle

Par Pierre MONSAN

Président de la Fédération française de biotechnologie et président fondateur de Toulouse White Biotechnology

La biologie industrielle résulte de la convergence des sciences de la vie et des sciences de l'ingénieur. Elle est le fruit de l'extraordinaire avancée des connaissances et des outils disponibles dans les deux domaines précités : diminution du coût du séquençage des génomes (et dans une moindre mesure de la synthèse de gènes), augmentation de la puissance de calcul disponible et des possibilités de modélisation, amélioration des méthodologies et des outils biologiques et analytiques... La combinaison de ces progrès a conduit à l'émergence de la biologie synthétique, c'est-à-dire à la possibilité de remanier rationnellement le génome d'un microorganisme en y introduisant notamment des systèmes de régulation et des activités enzymatiques non décrites dans les systèmes vivants, de manière à créer des voies métaboliques originales. Des succès industriels ont d'ores et déjà été enregistrés (hydrocortisone, acide artémisinique, propane-1,3-diol, acide succinique...).

## Introduction

Ce que nous dénommons aujourd'hui « biologie industrielle » est né de la convergence de deux domaines scientifiques, les sciences de la vie et les sciences de l'ingénieur. Loin d'une révolution, il s'agit d'une évolution <sup>(1)</sup>, d'une nouvelle approche apparue lorsque les chasseurs-cueilleurs sont devenus des agriculteurs-éleveurs. Il en va en effet de la biologie industrielle comme de notre cerveau. Celui-ci est constitué de trois strates :

- l'archae-cortex (ou cerveau reptilien) qui permet à l'homme d'assurer les fonctions de base de la vie,
- le paléocortex qui permet d'acquérir de l'expérience,
- et, enfin, le néocortex qui est spécifique à l'espèce humaine et qui, seul, permet à l'homme de se projeter dans l'avenir.

De la même manière, la biologie industrielle est constituée de trois strates :

- les **archae-biologies industrielles**, qui ont permis aux humains de transformer, de manière totalement empirique, des ressources naturelles (céréales, fruits, lait...) en boissons (bière, vin...) et en aliments (pain, fromage...),
- les **paléo-biologies industrielles**, ayant découlé des progrès dans la connaissance, depuis l'invention du microscope, le plus souvent attribuée à Antoni van Leeuwenhoek (1632-1723), qui a permis de mettre en évidence la structure « cellulaire » du vivant, jusqu'au

développement de la microbiologie (avec, bien sûr, Louis Pasteur, en tête). Elles ont abouti, au début de la seconde moitié du XX<sup>e</sup> siècle, au développement d'une industrie de production (basée sur la mise en œuvre de microorganismes) d'antibiotiques puis d'enzymes, et, enfin, d'acides aminés et organiques (voir le Tableau 1 ci-dessous). Ce premier croisement des sciences de la vie et des sciences de l'ingénieur fut appelé « génie biochimique », pendant de ce qu'était le génie chimique pour la chimie.

Produit	Quantité (Mt/an)
Bioéthanol	100
Isoglucose	15
MonoSodiumGlutamate	3,5
Lysine	1
Acide citrique	1
Acide lactique	1
Acrylamide	0,8
Antibiotiques	0,03

Tableau 1 : Les principaux produits de la biologie industrielle.

- les **néo-biologies industrielles**, qui sont le fruit d'une fracture dans l'état des connaissances, à savoir la découverte des enzymes de restriction et la possibilité de transférer de l'information génétique d'un système vivant à un autre. Le génie biochimique est alors devenu « biotechnologie », ce qui a permis, notamment, de produire

(1) MONSAN (P.), L'Actualité chimique, 2013, pp. 17-23 et pp. 375-376.

Photo © David Parker/SPL-PHANIE



Séquenceurs d'ADN utilisés dans le cadre du projet génome humain (engagé en 1990, ce programme a permis d'établir le séquençage complet (achevé en avril 2003) de l'ADN du génome humain).

« Depuis le début du XX<sup>e</sup> siècle, l'avancée réalisée dans les connaissances de la structure du vivant a été associée à trois phénomènes qui ont été source d'innovation : une diminution extraordinaire du coût du séquençage, l'augmentation de la puissance de calcul disponible et les progrès des méthodes analytiques. »

de l'insuline et de l'hormone de croissance humaine dans de simples microorganismes, puis de nombreuses protéines à usage thérapeutique (EPO, anticorps monoclonaux...) à l'aide de cultures de cellules eucaryotes supérieures. Plus récemment, depuis le début du XX<sup>e</sup> siècle, l'avancée réalisée dans les connaissances de la structure du vivant a été associée à trois phénomènes qui ont été source d'innovation :

- une diminution extraordinaire du coût du séquençage et, dans une moindre mesure, de celui de la synthèse de l'ADN, ce support de l'information génétique,
- l'augmentation de la puissance de calcul disponible et les possibilités correspondantes de développement d'outils de modélisation,
- les progrès des méthodes analytiques disponibles (spectrométrie de masse, RMN...) permettant de décortiquer le contenu cellulaire (elles constituent la famille des sciences dites « -omiques » : la génomique, la transcriptomique, la protéomique, la métabolomique ou encore la fluxomique).

Cela s'est traduit par une facilité accrue d'une modification non plus empirique, mais rationnelle du métabolisme microbien. Cette « ingénierie métabolique » permet d'introduire et d'optimiser le fonctionnement de voies métaboliques totalement nouvelles dans des bactéries, dans des levures ou dans des champignons. Elle aboutit à la production industrielle de composés obtenus jusque-là soit par extraction à partir de matières premières végétales (artémisinine <sup>(2)</sup>), soit par synthèse chimique (hydrocortisone : 23 étapes de synthèse chimique sont remplacées par une seule étape de fermentation <sup>(3)</sup>), pro-

(2) PADDON (C.) & KEASLING (J. D.), "Semi-synthetic artemisinin: a model for the use of synthetic biology in pharmaceutical development", *Nature Revue Microbiology*, vol. 12 (5), 2014, pp. 355-367.

(3) SZCZEBARA (F. M.) & al., "Total biosynthesis of hydrocortisone from a simple carbon source in yeast", in *Nature Biotechnology* 21, 2003, pp. 143-149.

Formation	Localisation	Commentaires
Université Pierre et Marie Curie	Paris	Santé
Université d'Evry ISSB	Evry	Master Biologie synthétique
Sup'Biotech	Villejuif	Cycle expertise 2 ans
École Supérieure des Biotechnologies	Strasbourg	Masters Haut débit/Biologie synthétique
INSA Toulouse	Toulouse	Génie biochimique
INSA Lyon	Lyon	Bioinformatique/Biologie synthétique.
Polytech Lille	Lille	Génie biochimique
Polytech Clermont-Ferrand	Clermont-Ferrand	Génie biochimique
Polytech Marseille	Marseille	Génie biochimique
CPE	Lyon	Génie biochimique
ENSTBB-INP	Bordeaux	Purification

Tableau 2 : Principales formations en biologie synthétique et en biologie industrielle.

pane-1,3-diol <sup>(4)</sup>, acide succinique <sup>(5)</sup>. Ces méthodes de plus en plus complexes d'ingénierie métabolique aboutissent à la « biologie synthétique », qui permet d'envisager la construction rationnelle de cellules microbiennes dédiées à telle ou telle application.

Cette construction peut s'effectuer soit « *top-down* » (en réduisant le génome d'un microorganisme à sa plus simple expression pour obtenir une efficacité maximale dans la production du composé d'intérêt), soit « *bottom-up* » (en construisant artificiellement un microorganisme ayant le patrimoine génétique minimal). Cela n'est plus une simple vue de l'esprit : la société californienne Synthetic Genomics vient d'annoncer (en septembre 2016) la création d'un « châssis » microbien, le Vmax, à partir d'une souche de *Vibrio natriegens* qui devrait rendre obsolète la bactérie « souffre-douleur » des biologistes, l'*Escherichia coli* <sup>(6)</sup>. L'intérêt majeur de ces « usines cellulaires » microbiennes est qu'elle permet de produire des composés chimiques dans des conditions douces en termes de pH (acidité) et de température à partir de sources de carbone renouvelable (de première ou de deuxième génération), et non à partir de carbone fossile. Le rôle de l'ingénieur, dans de telles approches, est cependant de rappeler que trois paramètres doivent être optimisés pour assurer la viabilité économique de ces procédés :

- le rendement en carbone : incidence du coût de la matière première,
- la productivité (kg/l x h) : coût des investissements (CAPEX),
- la concentration finale du produit : coût de purification (atteignant 50 % ou plus du coût du procédé).

Il ne suffit pas (hélas !) de cloner un gène ou d'introduire une voie métabolique dans un microorganisme pour pouvoir développer un nouveau produit ou un nouveau procédé.

## Quelle formation ?

L'objectif recherché est donc une maîtrise simultanée des sciences de la vie et des sciences de l'ingénieur. L'éternel débat est celui de savoir s'il est préférable de former des ingénieurs à la biologie ou de former des biologistes aux sciences de l'ingénieur. Le choix fait lors de la création (au début des années 1970) du département de génie biochimique de l'INSA de Toulouse a été de dispenser en parallèle les deux formations tout en laissant aux élèves la possibilité de se spécialiser au cours de leur dernière année de formation. D'autres formations (voir le Tableau 2 ci-dessus) penchent plutôt d'un côté ou de l'autre, les sciences de la vie étant le plus souvent privilégiées, notamment dans leur dimension santé humaine.

À l'heure actuelle, ce débat n'est pas clos, mais la complexité des connaissances ne cesse de croître et le travail en équipe est le plus souvent privilégié aussi bien dans les laboratoires publics que dans les entreprises. Cela impose néanmoins l'acquisition d'un langage commun, laquelle est gage d'efficacité.

Dans le domaine des sciences de la vie, les matières suivantes sont fondamentales : la (bio)chimie, la microbiologie, la physiologie (microbienne et humaine), la génétique, la biologie moléculaire...

Au niveau des sciences de l'ingénieur, les connaissances nécessaires se situent dans les domaines de la physique,

(4) KURIAN (J. V.), "A New Polymer Platform for the Future – Sorona® from Corn Derived 1,3-Propanediol", Journal of Polymers and the Environment 13 (2), April 2005, pp. 159-167. <http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.473.9445&rep=rep1&type=pdf>

(5) McCOY (M.), "Chemical Makers Eye Succinic Acid", in Chemical & Engineering News, volume 87, Issue 40, October 5, 2009, p. 22.

(6) <http://www.toulouse-white-biotechnology.com/>

du génie des procédés, des transferts (de matière, de chaleur et de quantité de mouvement), des opérations unitaires (cristallisation, distillation, séparation, etc.) et de l'automatique.

Ces fondamentaux doivent être complétés par un solide niveau de connaissance en mathématiques du fait de l'importance de la modélisation et des outils informatiques pour des applications allant de l'optimisation de la structure tridimensionnelle d'une protéine (par exemple, un catalyseur enzymatique) à celle d'une voie métabolique permettant d'obtenir la meilleure efficacité.

Il est fortement souhaitable d'acquérir soit directement en cours de formation, soit grâce à des formations complémentaires de solides notions dans les domaines suivants :

- la propriété intellectuelle : les biotechnologies sont un secteur de rêve pour la propriété intellectuelle. En effet, du fait de la complexité des cas traités, peu d'innovations résultent de connaissances totalement nouvelles : la bataille de brevets actuellement engagée autour de CRIPR-Cas9 en est une excellente illustration,
- la création et la gestion d'entreprise : une forte proportion de l'activité industrielle est concentrée au niveau de jeunes entreprises, un phénomène amplifié par l'incitation de plus en plus forte, notamment dans les écoles d'ingénieurs, à devenir entrepreneur. Cette tendance est accentuée dans le domaine de la santé par la décision prise par de nombreux groupes pharmaceutiques de restreindre leurs coûts de recherche et d'aller chercher la créativité à l'extérieur (*outsourcing*). Il est donc très important, pour le jeune chercheur en biologie, de comprendre les mécanismes de la rédaction d'un plan d'affaires, de la recherche de financements (depuis les concours d'innovation jusqu'aux fonds d'amorçage et au capital-risque), s'il veut pouvoir s'impliquer dans une telle aventure.

## Toulouse White Biotechnologie (TWB)

Une autre connaissance indispensable est de plus en plus requise : une connaissance respective du monde académique et de celui de l'entreprise.

Ces deux mondes sont par essence des mondes disjoints, dont les logiques respectives de fonctionnement et les contraintes sont totalement différentes, mais dont l'interpénétration devient de plus en plus incontournable du fait, d'une part, de la diminution inéluctable des crédits publics et, d'autre part, de la tendance croissante des entreprises à externaliser certaines de leurs fonctions, notamment la recherche.

Il est donc indispensable de mettre en place des structures d'interface public/privé performantes et efficaces, faisant intervenir des personnes ayant une connaissance concrète et approfondie de ces deux mondes, et non pas purement théorique, comme c'est généralement le cas.

Une telle structure a été créée en 2012 dans le domaine de la biologie industrielle, grâce au Programme d'investissements d'avenir (PIA) du Commissariat général à l'investissement (le CGI) : « Toulouse White

Biotechnologie » (TWB) <sup>(6)</sup>. Financée à hauteur de 20 millions d'euros par l'Agence nationale de la recherche (ANR) et gérée par l'Institut national de la recherche agronomique (INRA) sous la forme d'une unité mixte de services (UMS INRA/INSA/CNRS), TWB a pour mission d'accélérer le développement de produits et de procédés basés sur la transformation de sources de carbone renouvelable, et non pas fossile, au moyen d'outils biologiques (enzymes, microorganismes, consortia microbiens).

Le fonctionnement de TWB repose sur un consortium regroupant actuellement 45 membres, dont 30 entreprises et 4 fonds d'investissement. Le fonctionnement de ce consortium est régi par un accord qui aborde le maximum des points rencontrés lors de la conclusion d'un contrat entre une entreprise et un laboratoire public. Il est ainsi possible lors de la conclusion d'un nouveau contrat entre un laboratoire relevant de l'une des trois tutelles et un partenaire industriel de ne plus avoir à revenir sur les points juridiques et de ne considérer que les points scientifiques et technologiques. Ces contrats sont négociés par des chargés de partenariat (*business developers*), qui disposent d'une solide expérience industrielle et sont donc capables d'intégrer aussi bien les besoins du partenaire industriel que les contraintes des chercheurs du secteur public. La propriété intellectuelle qui découle de ces contrats est laissée à 100 % au partenaire industriel, ce qui évite de longues discussions (souvent sans objet réel). Si les objectifs du contrat sont atteints, le partenaire paie une prime de succès représentant de une à trois fois le coût total de la recherche négocié lors de la signature du contrat.

D'environ 1 million d'euros, les cotisations des partenaires privés (dont l'engagement est au minimum de trois ans) sont investies dans des projets de recherche très fondamentale, se situant donc très en amont, destinés à générer de la propriété intellectuelle qui est soit mise à la disposition de ces partenaires, soit utilisée pour créer une entreprise.

Autre originalité : tous les projets internes sont accompagnés d'une réflexion éthique et empreinte de développement durable, TWB disposant, en particulier, d'un « philosophe embarqué », qui échange constamment avec les équipes de recherche.

Après quatre années d'activité, TWB, qui emploie 90 personnes, a généré un chiffre d'affaires contractuel de plus de 19 millions d'euros, a déposé 13 brevets et créé une jeune entreprise, EnobraQ (qui, après six mois d'existence, emploie déjà 20 personnes), qu'elle héberge, ainsi qu'une jeune entreprise, Pili, issue de La Paillasse. TWB a permis à une autre jeune entreprise, AMOEBa Biocide, de lever 28 millions d'euros grâce à la mise au point d'un procédé original de culture d'amibes en milieu liquide.

## Conclusion

La biologie industrielle est née de la rencontre des sciences de la vie et des sciences de l'ingénieur. Elle bénéficie aujourd'hui des extraordinaires progrès réalisés dans la connaissance du vivant (en particulier des mé-

canismes complexes impliqués dans la régulation des processus métaboliques, dans la lecture (séquençage) et l'écriture (synthèse) de l'information génétique (ADN) et dans les moyens de calcul et les méthodes analytiques.

La formation des chercheurs et des ingénieurs œuvrant dans ce domaine est de ce fait très difficile, car elle implique l'acquisition de connaissances complexes et très variées. Ces connaissances sont cependant indispensables si l'on veut éviter un cloisonnement des compétences : le clonage d'un gène ou d'une voie métabolique est non pas une fin en soi, mais le début d'une aventure qui va passer par la culture de cellules à des échelles de plus en plus importantes, dans des conditions totalement différentes de celles du laboratoire, et ce seront souvent les conditions de purification qui décideront ou non de la faisabilité économique du procédé !

Si l'on veut favoriser le développement de nouveaux procédés industriels basés sur l'utilisation de sources de carbone renouvelable de première génération (amidon, sucre, huiles végétales) ou de deuxième génération (biomasses ligno-cellulosiques, CO, CO<sub>2</sub>, glycérol...), il est indispensable de développer les recherches fondamentales sur la connaissance du vivant et de son fonctionnement (qui parlait de CRISPR-Cas9, il y a de cela seulement cinq ans ?), c'est-à-dire en biologie des systèmes et en biologie synthétique. Il faut associer le développement de ces connaissances à des structures de transfert de technologie performantes et efficaces qui permettent de transformer ces résultats de recherche en procédés et en produits, en partenariat avec des entreprises, et notamment avec de jeunes entreprises dynamiques.