



Actes et propositions

Proteinov2016 **Protéines : Impacts des Procédés** **Immunogénicité / Allergénicité**

28 & 29 Novembre 2016

Biocitech, Romainville

Mathilde FAURE
Clarisse TOITOT



Avec le soutien



Table des matières

Introduction	3
Contexte	4
Discussion	9
Remarques et Propositions	15

Figures, tableaux et annexes

Figures

Figure 1 : Répartition en fonction du type d'organisation	3
Figure 2 : Répartition en fonction du type de domaine	4
Figure 3 : La Biomasse comme source initiale	6

Tableaux

Tableau 1 : Procédés de production	7
Tableau 2 : Méthodes analytiques	8
Tableau 3 : Propositions	17

Annexes

Annexe 1 : Lexique	18
Annexe 2 : Exposants	19

Proteinov2016

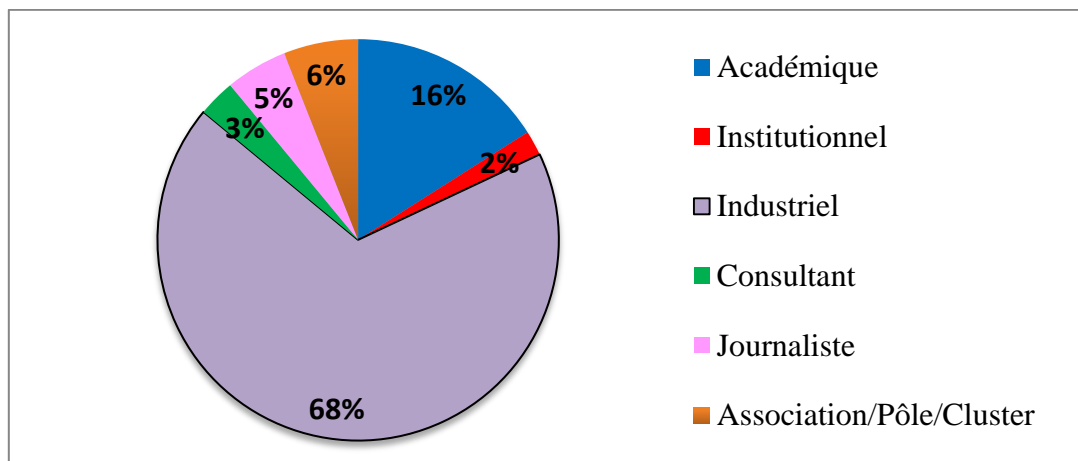
Protéines : Impacts des Procédés Immunogénicité / Allergénicité

28 & 29 Novembre 2016

Introduction

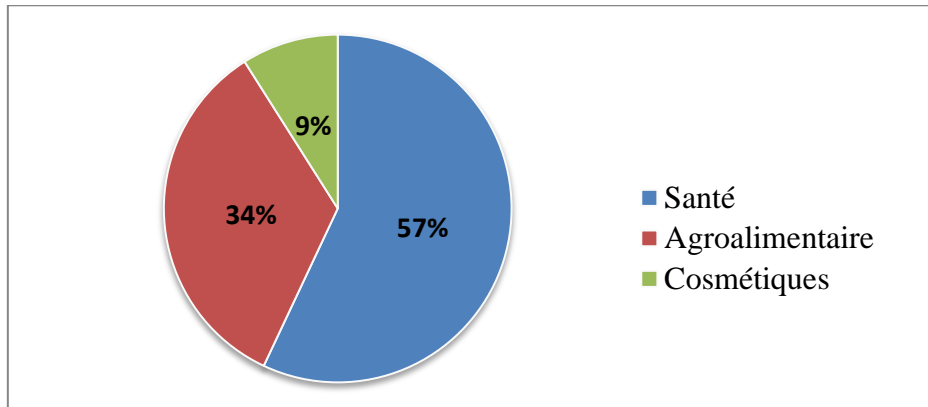
Ce colloque a été organisé par Adebiotech, Think Tank indépendant des biotechnologies et a bénéficié du soutien de ROQUETTE. Il a été marqué par une très forte participation d'industriels (68%) allant de petites entreprises telles que *ProteoGenix* ou *Metafora Biosystems* aux grands groupes comme *Waters* ou encore *Sanofi*. Des académiques étaient présent (16%), ainsi que des pôles ou associations (6%), des journalistes (5%), des consultants (3%) et des institutionnels (2%). (Figure 1)

Figure 1 : Répartition en fonction du type d'organisation



Le colloque Proteinov2016 a fédéré les acteurs de domaines d'application différents dans le secteur industriel : la santé à 57%, l'agroalimentaire à 34% et la cosmétique à 9%. (Figure 2)

Figure 2 : Applications du monde industriel



L'objectif de Proteinov2016 a été de rassembler les acteurs (industriels, institutionnels et académiques) autour du sujet des protéines. Durant ces deux journées, les experts ont tenté à travers des exposés, posters, discussions et débats, d'identifier et de lever les verrous qui freinent le développement de cette filière.

Le comité scientifique¹ a montré une réelle motivation et implication à l'élaboration de ce colloque, ce qui a permis un programme riche en informations et des dialogues fructueux entre les différents participants.

Contexte

Les protéines tant pour des applications pharmaceutiques qu'agro-alimentaires et cosmétiques présentent potentiellement des risques d'intolérance, d'**immunogénicité** ou d'**allergénicité** qui peuvent être développés au cours des procédés de production et de purification. L'allergénicité et l'immunogénicité constituent les points les plus importants pour la sécurité d'emploi des protéines.

¹ <http://adebiotech.org/proteinov2016/index.php?target=comites>

L'objectif de ce colloque était double :

- **Identifier des verrous** scientifiques, technologiques, réglementaires et économiques.
- **Mettre en avant les innovations** permettant d'obtenir des protéines répondant aux qualités nécessaires pour les applications recherchées - *niveau d'expression, fonctionnalité, tolérance.*

La modélisation et l'anticipation des risques potentiels d'allergénicité et d'antigénicité, doivent contribuer aux choix stratégiques des protéines sélectionnées et des procédés choisis. Les causes et les conséquences ont été abordées afin d'**améliorer et d'innover les procédés de production des protéines.**

Dans le secteur pharmaceutique, la priorité est la pureté. Le système d'expression doit être le moins antigénique possible pour une protéine thérapeutique et non pour les vaccins. Les agrégats sont inacceptables en thérapeutique et de surcroît, la réglementation est très stricte en la matière.

Dans les applications agroalimentaires, si l'impact des procédés technologiques sur les modifications physicochimiques des protéines est relativement bien connu, les conséquences en termes de nutrition, de digestibilité, de biodisponibilité sont multifactorielles. Certaines modifications vont entraîner ou non des pertes de fonctionnalité des protéines. L'effet peut donc être soit bénéfique et recherché soit néfaste et à éviter.

L'agrégation n'est pas un problème aussi important, elle peut même être recherchée. C'est la recherche de fonctionnalités qui est primordiale ainsi que la bonne absorption des protéines.

Le procédé ne prime pas sur le produit, c'est la combinaison, l'intégration de l'ensemble des paramètres (produit, formulation et processus), qui rendent le contrôle et l'innovation possibles. Dans le domaine thérapeutique, il y a un retour vers des procédés continus qui sont un acquis de l'agroalimentaire engendrant une baisse des prix et une augmentation de la productivité. Il est impératif de maîtriser les procédés et de se diriger le plus possible vers des procédés continus, afin d'éviter la dénaturation des protéines.

Le colloque Proteinov2016 a débuté par quatre conférences générales sur le sujet des protéines en mettant l'accent sur le problème de la tolérance aux protéines en particulier

l'antigénicité et l'allergénicité. Ceci a permis de placer le sujet dans son contexte et de rassembler les deux principaux secteurs d'application qui sont la santé et l'agroalimentaire.

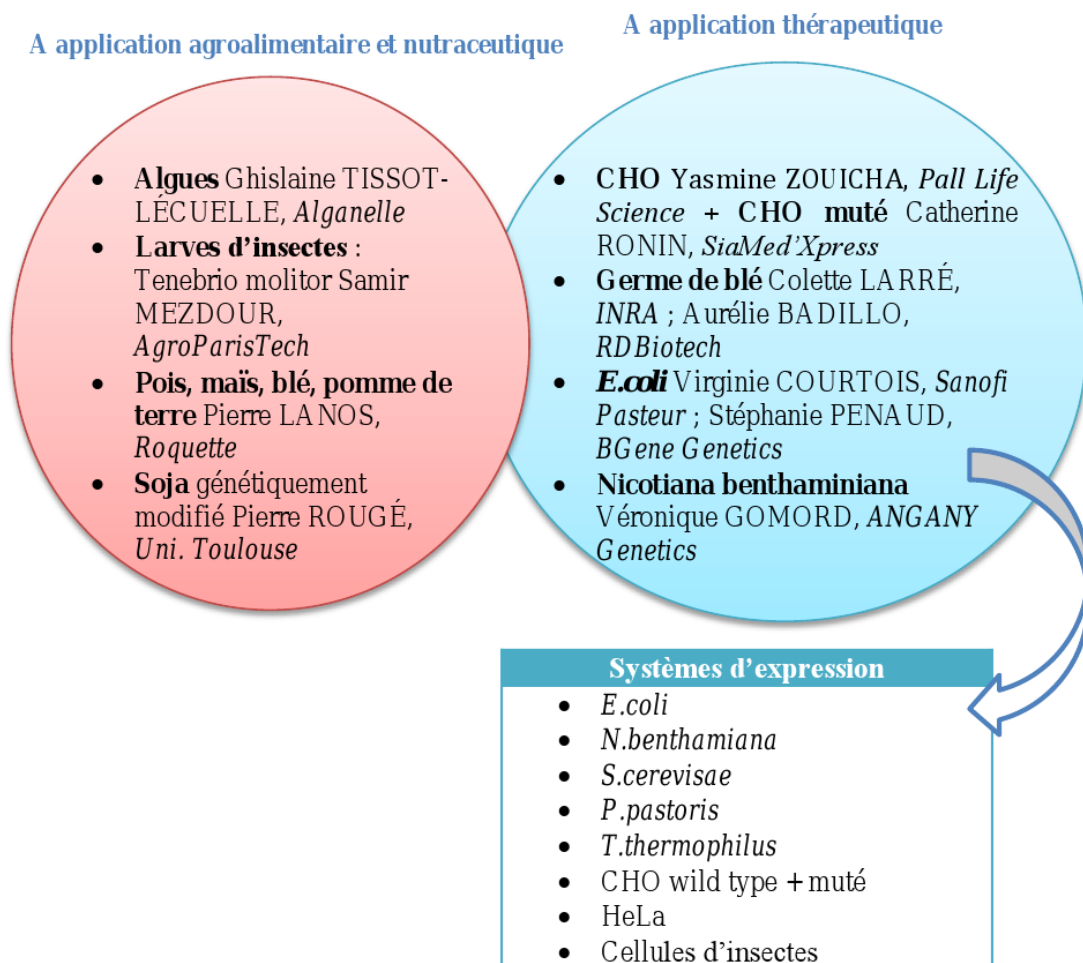
Par la suite, ce colloque a été articulé autour de quatre sessions :

- Session 1 : Systèmes d'expression et sources de protéines *Figure 3*
- Session 2 : Purification et transformation *TABLEAU 1*
- Session 3 : Contrôles et mesures *TABLEAU 2*
- Session 4 : Table ronde : Fonctionnalité, tolérance *DISCUSSION*

L'ensemble des discussions a été animé par 22 interventions et 13 posters qui ont tous été retenus pour une session orale « Flash posters ». Douze structures ont présenté leurs activités à travers une exposition de leurs produits. (ANNEXE 2 : Expositant)

Il y a eu beaucoup plus de résultats présentés pour les protéines de la santé que celles destinées à l'agroalimentaire.

Figure 3 : La Biomasse comme source initiale
La Biomasse comme source initiale



Beaucoup d'innovation en termes de procédés de production ont été présentées lors du colloque. Ces procédés sont majoritairement à application santé / pharmaceutique.

Tableau 1 : Procédés de Production

Procédés de Production
<ul style="list-style-type: none">• Production des VLPs par expression transitoire chez la plante <i>Nicotiana benthamiana</i> : Plateforme AllergoPearl™ (Véronique GOMORD, ANGANY Genetics)• Système baculovirus : cellule d'insectes (Martine CÉRUTTI, CNRS Marseille)• Système de transcription-traduction acellulaire : « cell-free system » (Sandra CORTÈS, Synthelis)• Chromatographie séquentielle multi-colonne : BioSC^C (Vincent MONCHOIS, Novasep)• Elimination acoustrophorétique : CHO (Yasmine ZOUICHA, Pall Life Science)• Cadence™ Inline Concentrators (Yasmine ZOUICHA, Pall Life Science)• Réacteur à cuve agitée (Renaud BALSSE, Pall Life Science)• Purification par MEP HyperCel (Catherine ALLIOUX, Pall Life Science)• Purification de protéines et anticorps par plateforme magnétique (Mourad FERHAT, Promega France)• Chromatographie d'affinité• Filtration tangentielle : TAGEN X (Abdel KHADIR, EKOPE)• Production de protéines et d'anticorps recombinants par de nombreux systèmes d'expression : <i>E.coli</i>, <i>B.subtilis</i>, etc. (Azaria REMION et Alexandre POURCHAILLE, ProteoGenix SAS)• Immunisation et phage display (Paul FERRARI, Sanofi)

De nombreuses méthodes analytiques ont été exposées tout au long de ce colloque. Elles ont essentiellement concerné le secteur pharmaceutique.

Tableau 2 : Méthodes Analytiques

Méthodes Analytiques	
PHYSIQUES	BIOCHIMIQUES
<ul style="list-style-type: none"> • Méthodes prédictives (Bernard MAILLÈRE, <i>CEA</i>) • Chromatographie (Vincent MONCHOIS, <i>Novasep</i>) • Spectrométrie de masse (Bernard MAILLÈRE, <i>CEA</i> ; Colette LARRÉ, <i>INRA</i>) • Mesure par affinité : résonance sur surface Plasmon (Nathalie VOLLMER, <i>HORIBA Scientific</i>) • Spectroscopie NIR et RAMAN (Fabien CHAUCHARD, <i>Indatech</i> ; Eric CALVOSA, <i>Sanofi Pasteur</i> / Fanny MOÏNI, <i>The Cosmo Company</i>) • Microscope / RMN / NTA / DLS-SLS-SEC / Taylor dispersion / Morphologi G3-ID (Stéphane ROUQUETTE, <i>MALVERN</i>) • IPAC2-ADR / Pharmascaan (Jérôme SABATHIER, <i>OCCHIO</i>) • Single-cell WB / Simple Western / SimplePlex / ICE : pureté / MFI : protection (Yannick SURROCA et Stéphanie LERAT, <i>ProteinSimple</i>) • Caractérisation des protéines, peptides, virus et autres bio-macromolécules et nanoparticules : the light scattering toolbox (Nicolas MIGNARD, <i>Wyatt Technology</i>) 	<ul style="list-style-type: none"> • Dotblot (Colette LARRÉ, <i>INRA</i>) • Western Blot • Stress thermique (Stéphane CORNEN, <i>Sanofi</i>) • Docking moléculaire (Pierre ROUGÉ, <i>Uni. Toulouse</i>) • Elisa : Détection des résidus CHO par Pall Forte Bio LLC-Cygnus Anti-CHO HCP (Attila ARANYOS, <i>Pall Life Science</i>) • Immunoprécipitation, Elisa (Azaria REMION et Alexandre POURCHAILLE, <i>ProteoGenix SAS</i>)

Discussion

La discussion intègre l'ensemble des questions-réponses du colloque ainsi que la table ronde coordonnée par Denis CHÉREAU et avec la participation de :

Jacques DUMAS, *Sanofi*; Bernard MAILLÈRE, *CEA*; Samir MEZDOUR, *AgroParisTech*; Jean-Jacques SNAPPE, *Ingredia* et Olivier TRANQUET, *INRA Nantes*.

Alors que l'antigénicité est un point fondamental pour les protéines thérapeutiques, l'allergénicité est le point clé en agroalimentaire. L'allergénicité demeure plus complexe que l'immunogénicité. L'antigénicité est un domaine mieux exploré alors que les mécanismes de l'allergie restent problématiques avec des méthodes difficiles.

Les allergies alimentaires sont de deux types : les allergies IgE-médiées et les allergies non IgE-médiées. Les allergies IgE médiées sont les plus connues et les plus fréquentes. Dans les pays développés, les allergies alimentaires IgE-médiées affectent 3 à 8% des enfants et 1 à 3% des adultes. Elles provoquent des signes muco-cutanés, respiratoires, digestifs ou systémiques. Les réactions peuvent être graves et dans certains cas le pronostic vital peut être engagé. Deux phases se distinguent :

1. la phase de sensibilisation à un allergène est silencieuse, c'est-à-dire sans manifestations cliniques. Elle conduit à la production d'IgE spécifiques de l'allergène qui se fixent ensuite sur des cellules cibles du système immunitaire, dont les mastocytes. C'est dans cette phase que se réalise la tentative de prédiction.
2. la phase effectrice se caractérise par ses manifestations cliniques. Lors d'un contact ultérieur avec l'allergène, l'interaction entre l'allergène et les IgE fixés sur les cellules cibles se traduit, entre autres, par une libération d'amines vasoactives dont l'histamine qui entraînent l'apparition des symptômes.

Il est nécessaire d'arriver à des actions concertées entre tous les acteurs qui s'intéressent à l'antigénicité et l'allergénicité des protéines. Un point commun demeure évident ; avant d'être un allergène sensibilisant, une allergie est un immunogène.

La société française d'immunologie et celle d'allergologie sont dans deux mondes séparés même s'il y a parfois des ponts. En effet, tous deux étudient le système immunitaire et l'allergie n'est finalement qu'une forme exacerbée de la réponse immunitaire. Il est souhaitable que les **rapprochements soient intensifiés.**

Il est impératif pour les industriels concernés de pouvoir sélectionner et anticiper les problématiques d'antigénicité et d'allergénicité. L'approche antigénicité est maintenant bien maîtrisée par des méthodes analytiques pour les protéines thérapeutiques (motifs antigéniques, glycosylation, impureté, agrégats...). **Cela n'est pas le cas de la prédiction des risques allergiques pour les protéines en agroalimentaires.**

Même si ce n'est pas obligatoire, il est conseillé de s'intéresser aux méthodes de prédiction d'immunogénicité. Il y a des ponts possibles entre la prédiction en termes d'immunogénicité et l'anticipation de l'allergénicité. Cependant, cela demande **une union des acteurs, un dialogue et une certaine réflexion.**

Qu'est ce qui est obligatoire de faire en matière d'immunologie, immunogénicité pour développer un nouveau produit/médicament protéiques ?

L'évaluation de l'immunogénicité est obligatoire uniquement pour les protéines thérapeutiques, même s'il peut y avoir des cas de réactivité avec des petites molécules. Cette obligation d'évaluation de l'immunogénicité passe par le développement de 3 types de test : screening / confirmation / neutralisation.

Pour revenir sur le risque d'immunogénicité, en quoi ce risque peut-il et doit-il guider le choix des systèmes d'expression ?

Le choix du système d'expression est important. Il va gouverner le repliement de la protéine et les mécanismes de glycosylation. Il est frappant de voir que lorsque la même protéine est exprimée dans 3 systèmes d'expressions différents les résultats diffèrent. Cela indique un motif antigénique différent à la surface de la protéine.

La plupart du temps, il n'y a pas réellement de prise en compte du risque dans l'aspect immunogénicité. Cela apparaît comme paradoxal. Aujourd'hui, il semble évident que c'est un facteur important, notamment depuis qu'il est connu que les variations de glycosylation peuvent donner des conformations et stabilités différentes pouvant impacter l'antigénicité. En ce qui concerne les glycosylations, le système CHO est très souvent choisi pour les protéines thérapeutiques car c'est le modèle le plus proche de la molécule naturelle. Le choix n'est donc pas du tout fait en fonction de l'immunogénicité. Le « dérisking » est une étape importante :

regarder la structure de la molécule, la modéliser (bio-informatique) puis la modifier pour enlever des groupements qui pourraient présenter un risque d'immunogénicité.

Certaines entreprises travaillent à intégrer le plus tôt possible dans le processus de développement de la molécule des tests d'immunogénicité.

Il est à noter que pour les industriels, des contraintes de délai de production rendent la prise en compte de l'immunogénicité compliqué. Les tests de prédiction peuvent allonger le temps de développement. Il faut donc **repenser aux processus pour avoir des résultats conformes rapidement.**

En ce qui concerne l'allergénicité, il y a un réel **besoin d'études de la phase de sensibilisation** pour développer des modèles mimant cette phase et qui seraient compatibles avec le timing du développement de nouveaux ingrédient/produit. Il faudra trouver la bonne équation entre le temps et le coût.

Pour les protéines destinées à l'alimentation, le fait d'ingérer par voie orale implique des **études physiologiques approfondies** : muqueuse, système immunitaire, microbiote, etc. Mais aussi des études sur des hydrolysats de protéines qui dans certain cas se révèlent plus facilement assimilables.

Il n'y a pas les mêmes capacités financières en agroalimentaire qu'en pharmaceutique pour mener ces études. Il est donc important de trouver des méthodes moins couteuses pour le monde agroalimentaire, permettant d'accéder à l'évaluation du risque d'allergénicité.

*Faut-il se soucier de la prédiction dès le début ou en milieu de parcours
pour les protéines thérapeutiques ?*

Toujours cette problématique d'antigénicité, c'est une course contre la montre. Il est demandé de mettre sur le marché les produits très vite. Soit il y a une capacité énorme à tester différents systèmes, soit c'est le système ayant la plus forte probabilité à donner ce qui est voulu qui est choisis. Et c'est, dans 95% du temps, la CHO.

L'habitude des experts sur les problèmes d'immunogénicité sera de dire « la vérité est chez le patient ». Les modèles animaux n'étant finalement pas prédictifs et les modèles cellulaires en cours d'étude n'étant pas toujours fiables.

En quoi l'agrégation est-elle contrôlée et en quoi est-elle positive ou négative dans ces procédés ?

C'est le cas des protéines laitières. Elles représentent un volume conséquent au niveau mondial (+1 million de tonnes utilisé sur l'ensemble du monde).

Contrairement à d'autres technologies, le lait est « facile à exploiter ». Il est aisé de se débarrasser de la matière grasse. Les protéines sont bien identifiées et séparables notamment des unes des autres tout en les conservant natives.

Le cisaillement est très utilisé dans le domaine des protéines laitières puisqu'il sert non seulement à la division des particules des protéines agrégées (microparticulation et nanoparticulation) mais aussi à la reconstitution. Les agrégats en bonne proportion sont bénéfiques. Le cisaillement a pour l'objectif d'obtenir des particules plus fines (quelques centaines de nanomètres). Elles seront intéressantes pour la stabilité des boissons par exemple.

L'intérêt des protéines dénaturées microparticulées et cisailées est qu'elles sont très stables, c'est-à-dire que comme elles ont réagi à la dénaturation, elles ne subiront pas une deuxième dénaturation, ce qui est un très gros avantage.

Y a-t-il un impact sur la digestibilité des protéines en agroalimentaire ?

Il a été remarqué que la vitesse de digestibilité est différente entre les caséines natives et caséines modifiées. Les caséines natives vont séjourner plus longtemps dans l'estomac où elles forment des coagulats plus consistants. La vidange digestive est plus lente, ce qui génère une diminution de la vitesse d'apparition d'acides aminés. La dénaturation appliquée aux caséines joue alors beaucoup sur la digestibilité.

Il s'avère que dans différents secteurs agroalimentaires, viande ou lait, les mécanismes d'agrégation sont connus et il est globalement possible de les piloter.

Des travaux suggèrent qu'une cuisson à basse température (aux environs de 70°C) favorise une digestion stomacale rapide mais incomplète, alors qu'une cuisson à une température plus élevée (aux environs de 100°C) ralentit la digestion mais assure une digestion plus complète.

Que peut-on dire de l'impact de ces procédés sur l'allergénicité des protéines alimentaires ?

Les procédés ont un impact au travers de la digestion, mais aussi sur la façon dont elles vont interagir avec le système immunitaire.

En fonction de l'état d'agrégation des protéines, ce ne sont pas les mêmes partenaires immunitaires qui vont être impliqués. L'orientation de la réponse immunitaire ne sera alors pas la même et dans certain cas ce serait plus une réponse sensibilisante (cas des allergènes de l'arachide).

L'enjeu est d'avoir des modèles pour étudier les réponses, le passage des allergènes et les interactions avec le système immunitaire, notamment en phase de sensibilisation. Ces réponses ne pourront être obtenues qu'avec une **coopération étroite avec les immunologistes.**

Quel est le flux d'innovation ? Comment cela se diffuse dans les produits et sur le marché ?

L'innovation est au cœur des secteurs, d'autant plus dans l'**industrie agroalimentaire**. Elle se fait sur des intervalles de temps différent, souvent court mais qui peut aller jusqu'à 5 ans pour certains projets.

D'après l'étude AllEnvi², 1 000 brevets par an au niveau mondial sont déposés sur la thématique des protéines, la plus grosse majorité venant de Chine.

Un certain nombre d'optimisations ou de variantes ont été mises au point afin de générer des propriétés fonctionnelles. Les recherches se font sur les ingrédients qui vont apporter des fonctionnalités voulues.

L'innovation de rupture est de l'ordre de deux à trois ans (traitement thermique, modification minérales...). Les clients et partenaires sont informés des modifications et gèrent la partie sécurité alimentaire vis à vis de leur marché après avoir obtenu toutes les informations de leurs fournisseurs industriels.

Dans le cas de l'industrie laitière, les procédés ne sont pas dénaturants. Ce sont des procédés qui n'utilisent pas de chimie, mais essentiellement des procédés membranaires qui permettent

² <http://www.allenvi.fr/actualites/2015/rapport-proteines-vegetales-et-alimentation>

de sélectionner les molécules d'intérêt. Ces ingrédients ou produits naturels sont modifiés pour apporter des fonctionnalités.

Il faut être prudent car les industries de 1^{ère} transformation (celle des ingrédients) et de 2^{ème} transformation (celle des produits finis) engendre une multitude de variantes dans les produits finis.

Concernant les **protéines thérapeutiques**, les réponses immunitaires sont moins fréquentes avec des protéines humanisées qu'avec des protéines étrangères mais de nombreux exemples démontrent que l'humanisation ne garantit pas l'absence de réponse immunitaire. Face à ces nombreux risques pouvant engager la santé des patients, les agences réglementaires imposent des règles très strictes en matière de production et de contrôle qualité des protéines thérapeutiques.

Des questions subsistent :

Chez un patient déjà sensibilisé, quels symptômes vont être générés ? Mais aussi, est-ce que le potentiel de sensibilisation des patients va augmenter ?

Le lait est un des allergènes majeurs pour les enfants. Quelles stratégies le monde laitier a donc mis en place pour essayer d'apporter une réponse ?

L'allergénicité n'est malheureusement pas un des thèmes qui est le plus étudié aujourd'hui. Pour prendre une position un peu sécuritaire, il y a un repliement derrière l'étiquetage. Un produit laitier est considéré comme un risque allergène, ce qui procure une garantie. Le lait est l'ingrédient de base dans l'alimentation des nourrissons et l'allergénicité n'est pas négligeable. Environ 5% des nourrissons sont allergiques au lait de vache mais aussi sensibles au lait de la mère (0,5% environ). Cela montre une allergénicité qui peut s'appliquer au lait de vache mais aussi au lait humain. Puis, à 3 ou 6 ans, il reste environ 10% des enfants qui ont des allergies avec une diminution de la sensibilisation aux protéines de lait.

L'hydrolyse est une solution utilisée par les fabricants de lait maternisé afin d'obtenir des peptides et si possibles de les sélectionner en dessous de 5 000 Daltons. Ce poids moléculaire est aussi demandé dans le monde « pet food », limitant les risques d'allergies chez les chiens et les chats.

L'impact de ces composés néoformés sur l'orientation des lymphocytes fait aussi l'objet d'études actuellement.

Il est suggéré que le microbiote intervienne dans les phénomènes d'allergie. Des études sont réalisées sur le sujet, constituant ainsi un nouveau champ de recherche. L'industrie alimentaire comme pharmaceutique s'y intéresse beaucoup.

Remarques et Propositions

Ce colloque a permis au travers de ces quatre sessions de mettre l'accent sur l'idée d'**intensifier les dialogues**. Il y a un réel besoin d'association des acteurs de l'amont jusqu'au marché d'application, mais aussi les services d'administration et les pouvoirs publics pour dialoguer sur les problématiques et difficultés rencontrées.

Il y a une réelle **volonté d'implication de tous les acteurs** mais ce qu'il manque pour l'instant ce sont les outils pour le faire. Pour évaluer les phases de sensibilisation, le seul outil fiable est l'observation chez le patient, lorsque le produit est mis sur le marché. **Le problème des méthodes de prédiction est qu'elles ne sont pas encore pertinentes en allergénicité**. Les modèles ne sont pas parfaits, ils ont tendance à surestimer. Ils sont cependant améliorés de jour en jour grâce au nombre important de données structurales affinées à chaque fois.

Les **outils in-silico** constituent une méthode prometteuse pour ce secteur : aujourd'hui, on ne connaît pas précisément les critères/caractéristiques qui font qu'une nouvelle protéine aura un potentiel de sensibilisation allergique fort ou faible. De ce fait, il est difficile de construire des outils in-silico pour évaluer ce risque. En revanche, **ces outils sont utiles pour comparer l'allergénicité avec des allergènes connus** et donc susceptibles de déclencher des réactions chez des patients déjà sensibilisés.

Pour une nouvelle protéine, le risque d'antigénicité peut donc être prédit. Par des méthodes prédictives d'**homologies** de séquences, notamment avec les allergènes et avec les protéines du soi car le risque n'est pas du tout le même d'un point de vue sécurité pour le patient.

Dans les deux secteurs, il a été remarqué une volonté de tendre vers des procédés mieux contrôlés, avec :

- une analyse de plus en plus fine,
- des problématiques et une analytique différente,

- des nouvelles perspectives de vigilance en termes d'immunogénicité et d'allergénicité.

Cependant, cela peut constituer un frein à l'innovation car finalement, quand une solution marche correctement, l'innovation implique une prise de risques.

L'impression d'avoir des préoccupations diamétralement opposées entre l'industrie pharmaceutique et l'industrie agroalimentaire est bel et bien concrète. D'un côté, l'objectif est de dérisquer l'immunogénicité (pharmaceutique) et de l'autre côté, il est de dérisquer l'allergénicité (agroalimentaire).

Seuls les dialogues entre les deux secteurs permettront d'aboutir à des objectifs communs : avoir des modèles, des approches bio-informatique et des méthodes physiques afin d'accroître les connaissances sur le comportement des protéines, permettant d'appréhender les paramètres clés.

La convergence entre les deux secteurs est cette **compréhension des protéines**. Il y a tout à gagner à **renforcer l'échange** des connaissances et des technologies employées.

« La protéine thérapeutique est à l'agroalimentaire ce que la formule 1 est la voiture de monsieur tout le monde. » Denis CHÉREAU.

Les protéines thérapeutiques représentent un petit volume mais à très forte valeur ajoutée, ce qui permet de développer des procédés et surtout des outils de contrôle qui bénéficieront à l'agroalimentaire.

Il y a des experts de l'allergénicité qui cherchent à vraiment comprendre ce qui se passe et à l'opposé les producteurs de masse avec énormément de variantes de composition et de procédés. Un effort est à faire quant à la compréhension de la complexité des protéines en unissant les connaissances et savoir-faire du secteur pharmaceutique/santé et du secteur agroalimentaire.

Dans le cadre de « Protéines du futur : un enjeu stratégique pour la compétitivité des industries agro-alimentaires françaises », coordonné par le pôle IAR, l'aspect allergénicité des protéines destinées à l'alimentation est révélé comme un **enjeu majeur de santé publique** à étudier. (Sandrine DEREUX, *Pôle IAR*)

Tableau 3 : PROPOSITIONS

<ul style="list-style-type: none">• Renforcer le dialogue entre les deux secteurs afin d’aboutir à des objectifs communs
<ul style="list-style-type: none">• Transférer les technologies d’analyses de l’antigénicité du monde de la santé vers celui de l’agroalimentaire
<ul style="list-style-type: none">• Améliorer les travaux communs sur les structures des protéines
<ul style="list-style-type: none">• Mettre toutes les forces vives sur la connaissance des mécanismes de l’allergie à partir de l’antigénicité et du développement de la sensibilisation
<ul style="list-style-type: none">• Créer un rapprochement entre les immunologistes et les allergologues et mieux intégrer le monde médical
<ul style="list-style-type: none">• Il a été remarqué à travers l’enquête de satisfaction, que les travaux sur les protéines agroalimentaires ont été trop peu représentés, ce qui est regrettable pour cette dynamique d’échange

Suite à ce colloque, une enquête de satisfaction a été réalisée. D’après les 30 réponses obtenues, le programme scientifique répondait globalement aux attentes (87% de «Oui» et 13% de «Non»). Parmi les répondants, 77% ont trouvé que certains points méritaient d’être plus développés. Il en ressort majoritairement que le secteur Agroalimentaire a été sous représenté (47%).

Adebiotech remercie le comité scientifique et tous les intervenants ainsi que les participants pour leur contribution et la qualité des débats.

Un merci tout particulier à Denis CHÉREAU, Samir MEZDOUR, Jean-Jacques SNAPPE et Olivier TRANQUET pour leur relecture et précisions.

Mathilde FAURE
Clarisse TOITOT

Annexe 1 : Lexique

Cellules HeLa : Lignée cellulaire cancéreuse utilisée en biologie cellulaire et en recherche médicale

CHO : Chinese hamster ovary

VLPs : *Virus-like particles*, ce sont des particules virales sans génome (= pseudo-virions) obtenues par l'assemblage spontané de protéines de la capsid d'un virus

Elisa : Dosage immuno-enzymatique sur support solide

Docking moléculaire : *Amarrage moléculaire*, méthode qui calcule l'orientation préférée d'une molécule vers une seconde lorsqu'elles sont liées pour former un complexe stable

Spectroscopie NIR : *Near infrared spectroscopy*, la spectroscopie proche infrarouge est une méthode spectroscopique utilisée dans la gamme infrarouge du spectre électromagnétique

Spectroscopie RAMAN : Méthode *non destructives* d'observation et de caractérisation de la composition moléculaire et de la structure externe d'un matériau

RMN : Résonance magnétique nucléaire

NTA : Analyse du suivi individuel de nanoparticules

SLS : Diffusion statique de la lumière

DLS : Diffusion dynamique de la lumière

SEC-MALS : Multi-angle light scattering for molar mass

IPAC2-ADR : Compteur automatisé pour agrégats de protéines, analyse de stabilité de protéines

Pharmascan : Détection de particules IN-SITU

WB : *Western Blot*, méthode de biologie moléculaire permettant la détection et l'identification de protéines spécifiques dans un échantillon biologique par transfert de protéines

Annexe 2 : Exposants

Le Laboratoire **Biopharme** se positionne comme un acteur majeur dans le développement, la conception et la commercialisation de dispositifs médicaux, de produits cosmétiques et de produits biocides. Son objectif était de présenter Clic&Go. Une technologie révolutionnaire Pratique, Simple et Rapide, Hygiénique, et Innovante.

Ekope a proposé sa gamme de cassettes d'UF tangentielle (TFF) de marque TangenX en solution single-use ou réutilisable, de 0,01m² à 2,5m². Cette gamme est reconnue pour offrir des flux de production jusqu'à 40% supérieurs aux autres solutions disponibles sur le marché, pour une même TMP.

Eurofins a pour mission de contribuer au bien-être et à la santé de tous en fournissant à leurs clients des services d'analyse et de conseil de haute qualité. Il dispose du plus grand réseau de laboratoires harmonisés d'analyse biologique et pharmaceutique de produits GMP dans le monde.

Malvern Instruments fabrique et commercialise depuis de nombreuses années des instruments destinés à l'étude de l'agrégation des protéines (DLS, SEC MALS...). Depuis deux ans, Malvern Instrument a investi massivement dans ce domaine avec le rachat de Microcal (ITC et micro-DSC) et de Nanosight (NTA -Nano Tracking Analysis) ainsi qu'avec l'introduction de nouvelles technologies (RMM et Dispersion de Taylor). Ce colloque était l'occasion pour eux de présenter toutes ces nouveautés aux communautés scientifique et industrielle intéressées par ce sujet.

Merck est une entreprise de Sciences et Technologie de pointe dans les domaines de la santé, des sciences de la vie et des matériaux de haute performance. Avec son propre département de recherche et en coopération avec des instituts de recherche et d'autres partenaires, l'entreprise contribue à une meilleure compréhension du mécanisme immunologique à l'origine du développement d'allergies et travaille activement à la prochaine génération de médicaments dédiés à l'immunothérapie allergénique.

Occhio Instrument a mis au point un nouveau service d'application de la biotechnologie et présente une gamme complète d'instruments d'application allant de la caractérisation des milieux dispersés (émulsion, protéines, bactéries, liposomes, microalgues) aux composés pharmaceutiques avancés.

Pall Life Science fournit des produits et des services de pointe pour répondre aux besoins des clients qui découvrent, développent et fabriquent des protéines thérapeutiques et autres médicaments issus des biotechnologies, des vaccins, des thérapies cellulaires et des produits pharmaceutiques classiques.

Lors de ce colloque, ils ont présentés de nouvelles technologies permettant un procédé en continu avec des équipements à usage unique pour la production industrielle de protéines thérapeutiques :

- le séparateur acoustique Cadence™ grâce à la technologie Acoustic Wave Separation* permet la séparation en continu des cellules en sortie de bioréacteur
- le concentrateur en ligne Cadence™ permet de concentrer des biomolécules sans recirculation et en continu
- le système de chromatographie BioSMB Cadence™ permet de purifier les protéines en continu

Le pôle de compétitivité IAR est spécialisé dans la valorisation des agros-ressources et de la bioéconomie. Leur rôle est de promouvoir et valoriser l'innovation. Leur présence au colloque leur a permis de connaître les problématiques techniques, réglementaires et scientifiques des allergies afin de peut-être initier des partenariats entre les laboratoires et certains industriels. Leur partenariat avec Adebiotech leur permet, en plus de travailler avec les structures, d'accroître leur visibilité auprès de leurs futurs adhérents.

ProteinSimple fabrique et commercialise des systèmes pour l'analyse des protéines. Leur présence au colloque leur a permis de présenter leur innovation. Grâce à leur système MFI, l'analyse des particules sub-visibles des produits biothérapeutiques permet de réduire leur immunogénicité.

Proteogenix SAS a plus de 14 ans d'expérience et présente un accès unique et personnalisé à 4 grandes familles de services complémentaires : Anticorps / Protéines / Gènes / Peptides.

Leur expérience transversale autour de ces quatre piliers leur permet de livrer des réactifs parfaitement validés et caractérisés selon le cahier des charges de leurs clients. Ils se basent sur l'application finale de leurs clients pour guider leur stratégie de production, ce qui aboutit à une augmentation significative de leur taux de réussite et de la qualité des réactifs ainsi qu'à une diminution des risques pour leurs clients. Ils garantissent, à travers leur accréditation CIR et leur politique tarifaire, un accès à des offres très compétitives.

Roquette transforme principalement quatre ressources renouvelables en matières premières essentielles à l'industrie. Ainsi, grâce à l'amidon extrait du maïs, du blé, de la pomme de terre ou du pois, la société produit plus de sept cents produits dérivés.

Wyatt Technology Corporation est impliqué dans la recherche et le développement de techniques, d'instruments et de logiciels pour la caractérisation macromoléculaire et nanoparticulaire absolue.