

Académie des technologies

Biotechnologies blanches et biologie de synthèse

Rapport de l'Académie des technologies
voté le 9 juillet 2014

Imprimé en France
ISBN : 978-2-7598-1703-0

Tous droits de traduction, d'adaptation et de reproduction par tous procédés, réservés pour tous pays. La loi du 11 mars 1957 n'autorisant, aux termes des alinéas 2 et 3 de l'article 41, d'une part, que les « copies ou reproductions strictement réservées à l'usage privé du copiste et non destinées à une utilisation collective », et d'autre part, que les analyses et les courtes citations dans un but d'exemple et d'illustration, « toute représentation intégrale, ou partielle, faite sans le consentement de l'auteur ou de ses ayants droit ou ayants cause est illicite » (alinéa 1^{er} de l'article 40). Cette représentation ou reproduction, par quelque procédé que ce soit, constituerait donc une contrefaçon sanctionnée par les articles 425 et suivants du code pénal.

PRÉFACE

La Biologie de synthèse apparaît constamment sur les listes des technologies dites d'*avenir* dans le champ très large de l'application des sciences du vivant. L'Académie des technologies, dont plusieurs membres participent ou ont participé à ces développements, se devait d'explorer ce thème. Le sujet est large et l'Académie s'est focalisée sur les applications à visées industrielles, dans le secteur dit des « biotechnologies blanches ».

Un groupe de travail composé d'académiciens a auditionné les acteurs français de cette nouvelle spécialité, chercheurs du secteur public comme de l'industrie, au sein des start-up et des entreprises établies. Le groupe a réuni ses recommandations dans un avis, voté par l'assemblée plénière de l'Académie à l'été 2012 et largement diffusé.

Il manquait toutefois un rapport complet sur le sujet. Les académiciens s'y sont attelés en 2013-14, en intégrant dans les chapitres qu'ils ont rédigés leur connaissance de l'évolution très rapide du sujet. Ce rapport a été lui aussi soumis au vote en juillet 2014.

C'est ce travail qui est aujourd'hui publié.

Alain Bugat,
Président de l'Académie des technologies

RÉSUMÉ

BIOTECHNOLOGIES BLANCHES ET BIOLOGIE DE SYNTHÈSE

La biotechnologie est l'application de la science et de la technologie à des organismes vivants, de même qu'à leurs composants, produits et modélisations, pour modifier des matériaux vivants ou non-vivants aux fins de production de connaissances, de biens et de services.

Les biotechnologies blanches (BBI), héritières d'une longue tradition d'industrie des levures et ferments (zymotechnologie) font usage de processus fermentatifs pour produire des composés d'intérêt industriel. Elles utilisent des matières premières renouvelables (produits et coproduits agricoles et forestiers, résidus végétaux et domestiques) qu'elles transforment en exploitant les propriétés des microorganismes et de leurs enzymes. Ainsi sont fabriqués de nombreux produits destinés à l'alimentation humaine et animale, des carburants, des spécialités et des commodités chimiques, voire même des matières plastiques. Dans ces derniers cas, elles visent à diminuer notre dépendance aux ressources fossiles et s'inscrivent donc dans le mouvement actuel de la « chimie verte ».

Alors que les BBI utilisent l'expérience acquise depuis plus d'un siècle dans l'art difficile de manipuler les microorganismes tout en s'appuyant sur les avancées de la génétique moléculaire, depuis le début des années 2000, la biologie

de synthèse (BS) vise à introduire en biotechnologie des principes d'ingénierie. L'enjeu est de favoriser l'éclosion d'une véritable bioéconomie, aujourd'hui balbutiante, basée sur la connaissance, indispensable au maintien et à la relance du développement économique. Il s'agit d'un domaine transdisciplinaire qui mobilise les sciences du vivant, la biochimie et l'informatique.

La France dispose d'atouts majeurs par sa position dans le secteur agricole et par la qualité de sa recherche amont dans le domaine des BBI, qui peuvent bénéficier des avancées en BS dont l'aboutissement logique en tant qu'ingénierie est l'industrialisation.

À ce jour, on compte en France une dizaine d'entreprises engagées dans les applications de la BS aux BBI, dont une poignée de startup, quelques ETI, ainsi que la multinationale Total. Conscient de la longueur des programmes de recherche dans le domaine des BBI, l'État a apporté son soutien depuis plusieurs années à l'émergence de ces applications à travers différents outils d'incitation. Toutefois, très peu de réalisations industrielles ont déjà abouti, le secteur étant considéré comme risqué par les investisseurs.

La position française dans le domaine académique de la BS est celle de troisième mondial. Loin derrière les États-Unis, elle commence à être distancée par le Royaume-Uni depuis 2011 en raison d'un certain différentiel de financement public.

Un effort conséquent est indispensable pour la formation d'ingénieurs et doctorants dans ces domaines. Il devra s'appuyer sur un petit nombre de filières de référence en BS et sur l'introduction de notions avancées dans les cursus classiques d'excellence biotechnologique.

Quant aux risques, il faut bien distinguer les produits classiques des BBI, qui ne paraissent pas nécessiter de nouvelles réglementations, des produits envisagés par certains secteurs de la BS, comme la biomédiation ou les applications du domaine de la défense. En amont des applications industrielles à grande échelle de la BS, il importe de mener des recherches sur la sécurité, la sûreté, la toxicologie et l'écotoxicologie des produits et des processus industriels.

La communauté académique de BS a spontanément autorégulé sa conduite et produit des efforts d'ouverture, de transparence, d'anticipation et de prévention des risques potentiels. Ceci est très positif, mais n'épuise pas le champ des questions éthiques. Il sera essentiel d'analyser les valeurs attachées à chaque objet issu de la BS et d'engager l'ensemble des acteurs dans une démarche réflexive sur les enjeux et les finalités des innovations envisagées.

TABLE DES MATIÈRES

01	Introduction
03	Histoire du développement des biotechnologies industrielles
03	Première génération
04	Deuxième génération
06	Troisième génération
09	Quatrième génération
11	La biologie de synthèse : développements scientifiques et méthodologiques
12	Introduction
13	Les spécificités de la biologie de synthèse
16	Démarches scientifiques
20	Principes fondateurs
21	Émergence
24	Bénéfices de la biologie de synthèse
24	La recherche publique en biologie de synthèse
27	De la science à la recherche industrielle dans le domaine des biotechnologies blanches, en France et à l'étranger
27	Introduction
29	Les principales avancées scientifiques
34	Les principales applications industrielles
40	Les sources de carbone renouvelable
43	Conclusion

45	Réglementation et biologie de synthèse
45	Introduction
49	La réglementation actuelle en France et en Europe
51	La réglementation US
53	Conclusion et perspectives
55	Annexes du chapitre 4
61	Sur l'éthique et la gouvernance de la biologie de synthèse
62	Une volonté d'innovation responsable
64	La responsabilité comme autorégulation
65	L'inventaire des risques
66	Au delà des risques...
69	Questionner les valeurs implicites
70	Dépasser l'anthropocentrisme
72	Conclusion
75	Les biotechnologies blanches ont-elles un avenir en France ?
81	Composition du Groupe de travail
83	Personnalités auditionnées par le Groupe de travail
85	Avis de l'Académie des technologies
85	Biologie de synthèse et biotechnologies industrielles (blanches)
86	Les biotechnologies industrielles (blanches)
87	Recommandations
89	Glossaire
93	Publications de l'Académie

INTRODUCTION

On lit couramment que les « biotechnologies blanches », vocable qui regroupe l'ensemble des industries qui utilisent le procédé de fermentation, font partie des technologies essentielles pour le développement économique du futur. Sans préjuger de ce futur, et sans remonter aux fermentations alimentaires dont certaines datent de l'antiquité, on rappellera toutefois que ces technologies sont souvent anciennes. À titre d'exemple, la production d'alcool carburant fait aujourd'hui encore appel au procédé de fermentation alcoolique décrit par Pasteur au début des années 1860, procédé qui conduit à la transformation du sucre en alcool éthanolique par l'action de la levure de boulangerie.

En fait, historiquement, l'industrie biotechnologique blanche s'est créée entre les deux guerres mondiales sur l'exploitation des propriétés des microorganismes et des enzymes qu'ils contiennent pour fabriquer, à partir de matières premières renouvelables contenant du sucre sous forme concentrée, de nombreux produits dans plusieurs secteurs industriels : l'alimentation humaine et animale, la chimie fine, la santé et l'énergie. Ces technologies ont commencé à pénétrer l'industrie chimique des monomères utilisés pour la production des plastiques. Le développement de la biotechnologie blanche s'inscrit donc dans le mouvement en cours de reconstruction d'une chimie faisant moins appel aux ressources fossiles, en particulier d'origine pétrolière, mouvement communément appelée la « chimie verte ».

Parallèlement à ces développements industriels, et au cours des dix dernières années, un nouvel ensemble technologique, la biologie de synthèse, émerge de la conjonction des progrès réalisés en sciences de la vie et dans les sciences de l'informatique. Sa mise en œuvre conduit à un renouveau et à une accélération de la recherche industrielle dans le domaine de la sélection des microorganismes et de leurs enzymes. Pour la première fois, elle permet l'ingénierie *in vivo* de nouvelles voies de biosynthèse qui mêle intégration de constructions génétiques récupérées dans la nature et constructions entièrement synthétiques, ouvrant ainsi une immensité de voies possibles pour la biosynthèse de molécules, simples ou complexes, pouvant être utilisées en chimie organique.

Ce rapport fait suite à un Groupe de travail qui a fonctionné en 2011-2012 au sein de la Commission biotechnologies de l'Académie des technologies. Il explore les liens qui sont en train de se forger entre la biologie de synthèse, ensemble technologique nouveau encore très proche des laboratoires, et la biotechnologie blanche, domaine industriel établi et en croissance au niveau mondial qui voit ainsi de nouvelles avancées devenir possibles par l'utilisation de ces outils. Comme souvent dans ce type de situation, la greffe n'est pas nécessairement facile et les gagnants de demain peuvent être différents des acteurs d'aujourd'hui. Ce rapport explore dans sa conclusion les voies possibles et fait quelques recommandations qui semblent au Groupe de travail utiles pour l'avenir de ce secteur en France.

Chapitre 1

HISTOIRE DU DÉVELOPPEMENT DES BIOTECHNOLOGIES INDUSTRIELLES¹

L'industrie de la fermentation vit actuellement sa quatrième génération technologique sur une période de soixante-dix ans. Il est donc intéressant de regarder sur quelles bases s'est construite cette industrie et quelles sont les étapes qui ont précédé l'avènement de sa dernière génération, la biologie de synthèse.

PREMIÈRE GÉNÉRATION

C'est à partir de la seconde guerre mondiale que des souches pures de microorganismes ont été cultivées volontairement. La première fermentation industrialisée a été conduite aux États-Unis pour fabriquer la pénicilline à partir de 1945. Cette industrialisation reposait sur des travaux de microbiologie fondamentale, qui, entre les deux guerres mondiales et à la suite des travaux princeps de Pasteur, avaient entrepris de classer les microorganismes et d'étudier leur métabolisme. Ce premier travail avait permis également de mettre au point les premières recettes des milieux de culture. Au cours des vingt ans précédents,

¹ Auteur : Bruno JARRY, ancien directeur scientifique de Tate & Lyle

Fleming et Florey avaient réalisé ce travail dans le cas du champignon unicellulaire *Penicillium* dont les propriétés antibiotiques avaient été bien étudiées. Mais c'est un consortium de compagnies pharmaceutiques privées, piloté par l'administration américaine de la défense, qui a développé l'ingénierie nécessaire pour cultiver le champignon en grand volume et pour extraire du milieu de culture le principe actif permettant ainsi de fabriquer la pénicilline en grande quantité dans les conditions de stérilité indispensables à son utilisation en injection chez l'homme.

Cette première biotechnologique avait bénéficié des propriétés particulières de la souche de *Penicillium* utilisée et surtout de l'immense intérêt pharmaceutique de la molécule. Dans une certaine mesure, le facteur coût de production restait mineur au vu de la valeur d'usage du produit ainsi fabriqué. Ce ne sera pas le cas de toutes les molécules dont la production pouvait être envisagée en utilisant cette technologie. Deux paramètres étaient alors définis, qui permettaient d'apprécier l'intérêt d'une production industrielle : la productivité (grammes de molécule d'intérêt /litre/heure) et le rendement (grammes de molécule d'intérêt produits/grammes de sucre consommés). Plus la productivité de la souche est élevée, plus court est le cycle de production et donc plus souvent la même cuve de fermentation est disponible pour une fabrication donnée. Le rendement de son côté permet l'estimation du coût de l'étape de la fermentation puisque le coût du sucre, la matière première de départ et souvent la plus coûteuse, est lui-même connu.

Deuxième génération

Pour généraliser l'approche et développer la production d'autres métabolites à partir de nouvelles souches, il allait falloir franchir une seconde étape : la **sélection** de souches de microorganismes spécifiquement adaptées à une production particulière. En utilisant les techniques de mutagenèse, chimique ou physique, développées dans les laboratoires de génétique fondamentale, les entreprises japonaises ont les premières inventé la sélection au laboratoire des microorganismes **mutants** les mieux appropriés au but recherché, capables de produire la molécule recherchée dans les conditions industrielles avec un rendement et

une productivité supérieurs aux souches d'origine naturelle dont ils sont issus. La recherche du meilleur rendement a aussi souvent nécessité la mise au point de procédés de fermentation multiphasiques ainsi que de procédés de purification de ces molécules adaptés aux grands volumes des milieux aqueux mis en œuvre. Enfin ces firmes japonaises ont les premières breveté ces souches de production mutantes et ces procédés de fabrication.

C'est ainsi que pendant une trentaine d'années, la production fermentaire de pénicilline a été suivie de beaucoup d'autres : antibiotiques divers, vitamines, acides aminés et acides organiques comme les acides acétique, citrique ou lactique, épaississants, enzymes, etc. Comme indiqué plus haut, cette seconde génération de procédés reposait sur la connaissance de la diversité microbiologique, indispensable pour repérer d'abord et sélectionner ensuite les microorganismes mutants les plus productifs, et la maîtrise d'un génie chimique adapté, assez différent de celui développé en chimie organique classique. Ces deux domaines technologiques étaient à l'époque travaillés à l'intérieur des groupes industriels, souvent sous forme de savoir-faire, sans contact formalisé avec les équipes de chercheurs du milieu académique.

Sur cette période, les grands groupes chimiques européens ont rapidement rattrapé les avancées japonaises. Avec le développement des marchés, la matière première sucrée indispensable pour « nourrir » les microorganismes devenait l'élément clé pour la poursuite du développement de la biotechnologie. Les industries européennes du sucre puis de l'amidon, bien intégrées dans le paysage agricole, allaient fournir les matières premières sucrées nécessaires, abondantes et de mieux en mieux standardisées au fur et à mesure des améliorations techniques apportées aux procédés de production. Le Japon, qui ne produisait que très peu de sucre, ne pouvait pas rester dans la course et devait délocaliser ses productions, souvent en partenariat avec des sociétés européennes. À la fin des années 1970, la biotechnologie industrielle, essentiellement européenne, était née.

Cette nouvelle branche industrielle servait les marchés mondiaux de l'industrie chimique, de l'industrie pharmaceutique ou ceux des industries alimentaires, humaines et animales. Elle nécessitait des investissements lourds au départ, compte tenu de la complexité des technologies mises en œuvre et de la taille des outils industriels. À titre d'anecdote, le président du groupe Lafarge qui, dans ces années investissait dans cette industrie en rachetant le groupe Coppée, avait

coutume d'expliquer qu'il le faisait en partie parce que cette industrie n'était pas très éloignée de celle du ciment, en termes d'investissement capitalistique. Ces investissements ne pouvaient être rentabilisés que par le développement des marchés très vite mondialisés pour limiter la concurrence autant que faire se pouvait. Deux barrières d'entrée étaient en place : les technologies, brevetées ou protégées sous forme de savoir-faire, et le montant élevé des investissements financiers consentis.

La France disposait, au début des années 80, d'une industrie chimique encore florissante et des industries sucrière et amidonnière protégées par la politique agricole commune de la Communauté européenne. Des firmes françaises avaient donc investi dans ces nouveaux secteurs, complémentaires de leurs activités chimiques traditionnelles : Rhône-Poulenc dans les vitamines et les antibiotiques, Sanofi, alors filiale du pétrolier Elf, dans les enzymes, les ferments et les épaississants, Lafarge, en recherche de diversification, dans les acides aminés en partenariat avec le groupe japonais Ajinomoto. Une situation analogue existait en Allemagne où la grande industrie chimique, Hoechst, Bayer et Degussa qui sera intégré au Groupe BASF quelques années plus tard, mettait au point des procédés pour la production de molécules de même nature. Enfin le groupe danois Novo se positionnait sur les enzymes dont il allait devenir en quelques années le premier producteur mondial en mettant sur le marché les lipases et protéases qui entraient dans la composition des lessives. La taille des groupes impliqués permettait les efforts de recherche indispensables en interne. Elle permettait aussi de tenir éloignée la concurrence.

L'Union européenne, pleinement consciente de l'importance de ces développements, mettait en place des barrières douanières et surtout des aides à l'exportation.

TROISIÈME GÉNÉRATION

Au début des années 1980 une nouvelle technologie inventée dix ans auparavant, le **génie génétique** devenait utilisable pour des applications industrielles. Elle aussi « sortie » des laboratoires de biologie fondamentale, elle apportait à ceux qui en connaissait le maniement des outils nouveaux permettant de combiner des

gènes issus de microorganismes différents dans une même souche microbienne. Cette approche, rapidement associée à la recherche des mutations favorables allait, sur le plan industriel, conduire à une amélioration spectaculaire de la productivité des souches. Du fait de la complexité de la mise en œuvre du génie génétique, elle allait rapprocher les équipes de recherche industrielle et les équipes de la recherche fondamentale. Une telle équipe mixte allait, chez Eurolysine, la joint venture franco-japonaise de Lafarge et Ajinomoto, mettre au point et lancer à Amiens en 1989 la première production industrielle mondiale utilisant une souche fabriquée par génie génétique. La thréonine, un acide aminé, pouvait ainsi être produite à un coût compatible avec son utilisation en alimentation animale.

Toutefois, ces applications industrielles du génie génétique allaient rapidement être regardées avec grande suspicion par une partie de la société civile : des ONG, proches des mouvements environnementalistes, mettaient en garde contre de possibles attaques à l'environnement entraînées par la présence dans ces microorganismes industriels de gènes portant la résistance à des antibiotiques, gènes à l'époque indispensables pour suivre les constructions génétiques produites *in vitro*. Des guides de « bonne pratique », rapidement intégrés dans des réglementations nationales, puis européennes, étaient négociés et sont d'ailleurs celles qui encadrent toujours l'utilisation de cette technologie en milieu industriel (voir le chapitre 4).

L'emploi du génie génétique allait transformer sensiblement l'industrie et, surtout, son approche vis-à-vis de l'innovation. D'un côté, elle allait rationaliser la recherche de production de souches, nécessitant l'intégration en interne dans les groupes industriels, d'équipes spécialisées capables de mettre en œuvre ces technologies nouvelles et complexes. Par ailleurs, du fait du développement de la réglementation, apparaissaient de nouveaux coûts pour la mise au point des procédés et des équipements, mais aussi pour la réalisation des tests destinés à prouver l'innocuité de ces technologies sur l'environnement et l'établissement des dossiers d'homologation des souches ainsi produites. Ces coûts iront en augmentant de façon importante au fil des années suivantes.

La décennie 1990 allait aussi voir une redistribution importante des cartes dans la chimie, en particulier en Europe. En France, la fin de la chimie de Rhône-Poulenc, la création de Rhodia, le recentrage de Sanofi sur la pharmacie et l'arrêt de la diversification biotechnologique du groupe Lafarge, le tout en quelques années,

conduisaient à un changement brutal du paysage et signalait la fin d'une ambition nationale mondialisée. Certes, les usines de fermentation ne seront pas fermées, mais elles seront vendues à des actionnaires étrangers dont les laboratoires de recherche étaient installés dans leurs pays d'origine, stérilisant de fait les partenariats prévus ou en cours entre les laboratoires de recherche publics nationaux et ceux des industriels. Bayer et BASF, les géants de la chimie allemande, allaient mieux tenir le choc, mais Hoechst et Degussa disparaissaient à la même époque, absorbés par des groupes plus importants.

À l'inverse du recentrage des acteurs de la chimie française vers des activités identifiées par les marchés financiers comme des « pure players », les amidonniers internationaux, qui jusqu'alors se positionnaient comme producteurs de matière première sucrée pour l'industrie de la fermentation, allaient au contraire, à la même époque, décider de conduire des stratégies de diversification en intégrant en aval des activités de biotechnologie industrielle. Le groupe américain ADM (Arthur Daniels Midland) se lançait, avec quelques difficultés d'ordre technique, dans la production d'acides aminés pour l'alimentation animale, Cargill dans les vitamines et l'anglais Tate & Lyle dans l'acide citrique.

Après l'ouverture d'une production d'éthanol carburant au Brésil pour le marché national dans les années 1970, le marché de l'éthanol se développait également aux États-Unis et en Europe. L'arrêt des unités de production basées sur l'éthylène, rendu trop coûteuses compte tenu du renchérissement des ressources fossiles après le deuxième choc pétrolier, avait conduit à leur remplacement par des distilleries biotechnologiques utilisant le procédé à base de sucre et de levure travaillé par Pasteur. Deux des trois grands amidonniers mondiaux, ADM et Tate & Lyle allaient devenir en quelques années des producteurs d'éthanol majeurs aux États-Unis et, pour Tate, en Europe prêts pour le développement de l'éthanol carburant qui devient, et demeure toujours aujourd'hui, la principale production biotechnologique industrielle des années 2000 à nos jours au niveau mondial (90 Mt/an).

En Europe, et donc en France, pour se soumettre à la diminution des quotas assignés aux sucriers par la mise en œuvre de la seconde Politique agricole commune, les sucriers et amidonniers rationalisaient leurs usines et redéfinissaient leur actionnariat. Pour beaucoup, la sortie des actionnaires industriels traditionnels était compensée par l'entrée de grandes coopératives agricoles fédérant des agriculteurs producteurs de betterave et de céréales. Ces coopératives, soit par

développement interne, soit par acquisition de distilleries existantes, se positionnaient également sur le marché aval de l'éthanol-carburant dont la mise en place officielle interviendra en Europe en 2000².

QUATRIÈME GÉNÉRATION

À partir du milieu des années 2000, des sociétés de recherche se sont créés, en Europe et aux États-Unis, pour exploiter les avancées de la biologie de synthèse en proposant la mise au point clé en main de souches produites par l'utilisation de cette nouvelle technologie. Aux États-Unis, le producteur d'enzymes Genencor³ utilise le premier le savoir-faire de ses équipes de recherche pour proposer ce type d'activité de service. Il vend ses souches optimisées pour la production de PDO (un intermédiaire chimique utilisé dans l'industrie textile) à Dupont qui développera le procédé industriel avec Tate & Lyle. Depuis quelques années, il travaille en liaison étroite avec la recherche de Goodyear pour la mise au point d'un procédé de production biotechnologique d'isoprène. Cinq ans plus tard, la société californienne Amyris, qui deviendra filiale de Total, produit des souches pour la production de biocarburants, de bases aromatiques et de médicaments. De nombreuses autres sociétés de recherche, souvent issues d'équipes universitaires, se sont positionnées sur ce créneau aux États-Unis avec des accords plus ou moins solides signés avec les grands groupes chimiques ou pétroliers mondiaux. Plusieurs exemples en sont donnés dans le Chapitre 3.

En France, Metabolic Explorer, Proteus, Global Bioénergies, Deinove et quelques autres sociétés ont réuni des équipes d'experts capables d'intégrer les dernières avancées de la biologie de synthèse pour préparer des souches

² Parallèlement au développement européen de l'éthanol carburant, les esters d'huile végétale, principalement de colza et de tournesol se taillaient un marché important pour remplacer le carburant diesel d'origine fossile largement importé, en aidant simultanément à diminuer les importations de protéines végétales, marché sur lequel l'Europe était très déficitaire.

³ La société Genencor a été depuis achetée par le groupe chimique américain Dupont de Nemours.

d'intérêt industriel. Elles tentent d'intégrer également le génie chimique et la fermentation à grande échelle, seules ou en partenariat avec d'autres entreprises compétentes en génie biochimique. Certaines ont réussi à vendre leurs procédés à des firmes françaises ou étrangères déjà installées dans le secteur de la biotechnologie industrielle ou essaient d'établir des partenariats de production avec elles. D'autres tissent des accords avec des groupes qui découvrent cette industrie, mais y voient une façon de « verdir » leurs activités. La planche ci-après présente à partir d'une grille d'analyse publiée par l'OCDE⁴ en 2011, une représentation des acteurs industriels français.

Ces startup et leurs programmes sont présentés plus en détail dans le Chapitre 3 de ce rapport.

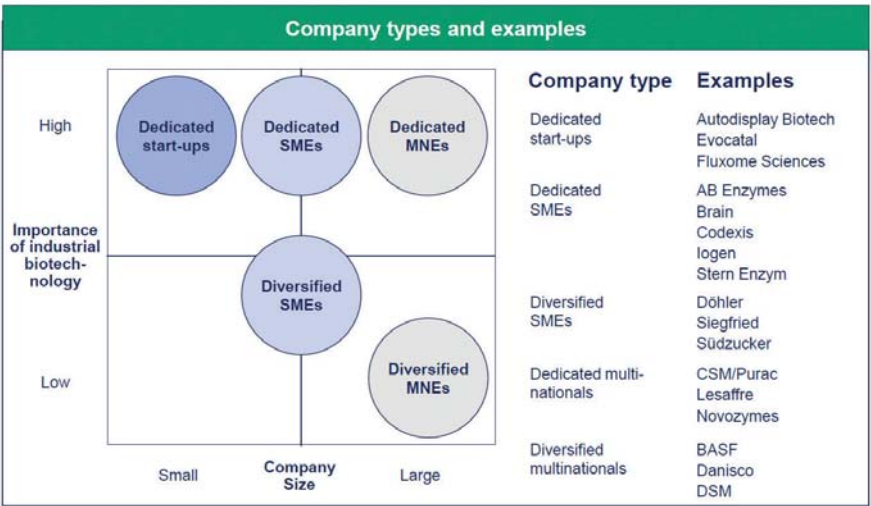


Planche : Typologie des compagnies françaises du domaine des biotechnologies blanches

⁴ OCDE, 2011 www.oecd.org/fr/sante/biotech/49023468.pdf

Chapitre 2

LA BIOLOGIE DE SYNTHÈSE : DÉVELOPPEMENTS SCIENTIFIQUES ET MÉTHODOLOGIQUES⁵

Selon l'OCDE, les sciences biologiques apportent une valeur ajoutée à de nombreux biens et services réunis sous le terme de « bioéconomie ». Une bioéconomie est un système économique dans lequel les ressources biologiques telles que forêts, systèmes agricoles et aquatiques, ne sont pas seulement source d'alimentation humaine et végétale et de fibres, mais fournissent aussi produits chimiques, énergie, matériaux, ainsi que des bénéfices environnementaux tels que la réduction des émissions de gaz à effet de serre.

La biologie de synthèse est la forme la plus avancée des technologies du vivant, qui sous-tendent cette bioéconomie.

Ce chapitre constitue un bref panorama des développements scientifiques et méthodologiques de la biologie de synthèse.

⁵ Auteur : François Képès, Programme d'épigénomique et institut de Biologie des Systèmes et de Synthèse [iSSB] ; Genopole, CNRS, Université d'Évry et Department of BioEngineering ; Centre for Synthetic Biology and Innovation, Imperial College London.

INTRODUCTION

La biologie de synthèse a été définie par le consortium européen ERASynBio⁶ comme « l'ingénierie de la biologie : le design délibéré et la construction de systèmes, basés sur ou inspirés par la biologie, pour implémenter de nouvelles fonctions à des fins utiles, en s'appuyant sur des principes élucidés en biologie et en sciences de l'ingénieur ». Si l'accent mis sur l'ingénierie la positionne sur le versant appliqué de la recherche, la biologie de synthèse occupe en fait tout le spectre depuis le versant fondamental. En effet, beaucoup de questions fondamentales trouvent des réponses particulièrement tranchées dans la construction sur mesure de l'objet adéquat. Prenons l'exemple du code génétique : est-il quasi-universel dans le monde vivant parce que tous les êtres vivants dérivent du même ancêtre ? Ou parce que des contraintes physicochimiques ont à l'origine imposé ce code à toute forme de vie ? Le moyen le plus simple et direct de répondre à cette question fondamentale est de construire une bactérie dotée d'un code génétique modifié : le simple fait qu'elle croisse indique qu'aujourd'hui les contraintes physicochimiques ne jouent pas un rôle essentiel dans l'usage du code génétique.

La biologie de synthèse combine la biologie avec les principes de l'ingénierie afin de concevoir rationnellement et de construire modulairement des circuits biochimiques à partir de composants standardisés et interchangeables. Ces circuits peuvent être de type métabolique ou régulateur, ou encore mêler ces deux types. Un circuit métabolique permet d'effectuer une suite de réactions biochimiques débutant avec un composé naturel ou bon marché et s'achevant avec le produit souhaité (médicament, carburant ou autre). Un circuit régulateur permet de déclencher cette production au moment opportun, de la réguler et d'améliorer son efficacité. Ces circuits biochimiques peuvent être assemblés au sein de particules ou de cellules vivantes.

⁶ ERASynBio est depuis janvier 2012 le réseau de l'espace européen de recherche pour la biologie de synthèse www.erasynbio.eu.

LES SPÉCIFICITÉS DE LA BIOLOGIE DE SYNTHÈSE

La biologie de synthèse est un nouveau domaine scientifique et technologique qui s'appuie sur plusieurs disciplines, dont la biologie, la physique, la chimie, les mathématiques, l'informatique, l'automatique et les sciences de l'ingénieur.

Un projet type de biologie de synthèse débute par la définition d'un « cahier des charges » spécifiant un but précis. Un exemple de but pourrait être la fabrication d'une pompe à insuline biocompatible destinée aux patients atteints de diabète. Chaque heure, ce dispositif mesurerait le glucose sanguin et déciderait de la dose d'insuline à apporter. Afin de rythmer cette pompe, il faudrait y inclure une horloge biomoléculaire. Le cahier des charges stipule que sa période doit être une heure. Ici, biocompatibilité oblige, l'horloge serait implémentée par un circuit biochimique comprenant quelques protéines en interaction. L'analogue électronique de cette horloge est un circuit oscillant de période horaire basé sur des transistors et diodes. Le circuit de base est semblable, mais fait appel à des protéines plutôt qu'à des composants de silicium.

Ensuite, ce projet se développe généralement en quatre phases successives : conception, test, construction et caractérisation.

- ▶ Première phase : conception rationnelle d'un nouveau composant, dispositif ou système biologique, faisant appel à la modélisation mathématique et à la simulation informatique. Le recours à cette méthodologie, la complexité des objets conçus et la liberté créatrice vis-à-vis de la Nature sont les éléments qui distinguent la biologie de synthèse du génie génétique. Dans notre exemple, il s'agirait de développer un modèle mathématique d'horloge.
- ▶ Deuxième phase : test des propriétés de l'objet virtuel conçu. Cela permet d'explorer par avance les propriétés de l'objet qui sera construit ; un test satisfaisant envoie en phase 3 ; un test insatisfaisant renvoie en phase 1. Pour notre exemple d'horloge, il faudrait faire « tourner » son modèle dans l'ordinateur par simulation numérique, en ajustant ses paramètres pour approcher la période visée d'une heure.
- ▶ Troisième phase : construction de l'objet ainsi conçu ; selon les cas, il sera fait appel au génie génétique, à la chimie de synthèse, aux micro- ou nanotechnologie, ou encore à une combinaison de ces approches. Pour notre exemple, il s'agirait de réaliser par génie génétique le circuit biochimique oscillant avec une période d'une heure, en respectant les paramètres obtenus en phase précédente.

- Quatrième phase, enfin : caractérisation de l'objet ainsi construit, au moyen de toute méthode adaptée à sa nature et à son futur usage. Pour l'horloge, il faudrait vérifier la présence d'oscillations et mesurer leur période effective en comparaison de la valeur-cible d'une heure.

Si les propriétés de l'objet construit ne donnent pas entière satisfaction, il est nécessaire de revenir en phase 1 pour réenclencher un nouveau cycle en quatre phases (Fig. 1). L'objectif serait de parvenir au résultat souhaité en un seul cycle. Cet objectif sera atteint de plus en plus fréquemment puisque les modèles s'affineront en accumulant de l'expérience. Cependant, aujourd'hui, le cas le plus fréquent est celui où un petit nombre de cycles doivent être enchaînés en une spirale de progression pour aboutir à un résultat respectant le cahier des charges initial.

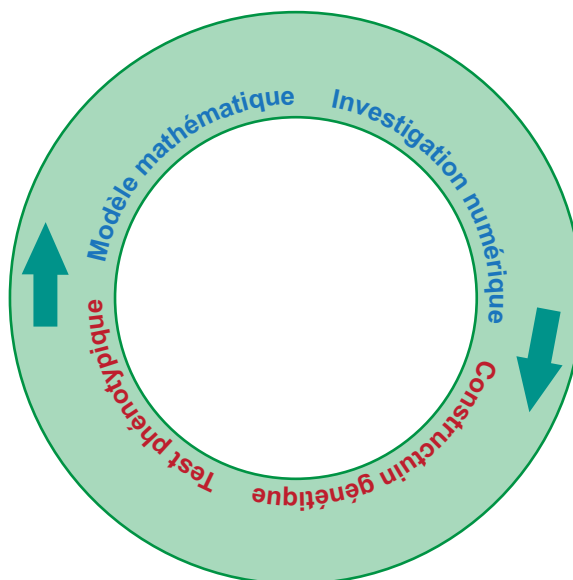


Figure 1 : La spirale améliorative en biologie de synthèse répète le cycle montré ici jusqu'à satisfaction du cahier des charges initial

Mais alors, quelle différence avec la situation prévalant précédemment en biotechnologie — outre les éléments rappelés ci-dessus (réduction de la durée totale du projet, usage de méthodes computationnelles, complexité de l'objet conçu, créativité) ? La différence tient dans le découplage par la biologie de synthèse

entre conception (phases 1 et 2) et fabrication (phases 3 et 4). En effet, sans ce découplage, tout objet issu de la biotechnologie est un produit *ad hoc*, et le processus qui y a conduit ne peut quasiment pas servir à nouveau pour accélérer la mise au point d'un autre objet, sauf s'il est très analogue au premier. En première approximation, on peut donc affirmer que dans la biotechnologie traditionnelle, c'est principalement le savoir-faire d'une personne ou d'une équipe qui peut être recyclé. Ce savoir-faire peut concerner typiquement les génies génétique et microbiologique et la conduite de fermentation ; ou bien la milli- ou microfluidique et la chimie de synthèse. Au contraire, la biologie de synthèse recherche des réponses génériques aux problèmes biotechnologiques, aux plans algorithmique de modélisation mathématique et combinatoire comme au plan biomoléculaire. Elle bâtit un socle de concepts et de méthodes ingénierales qui peuvent être réutilisés. C'est pourquoi elle apporte des solutions dans tous les domaines applicatifs des biotechnologies (Fig. 2).

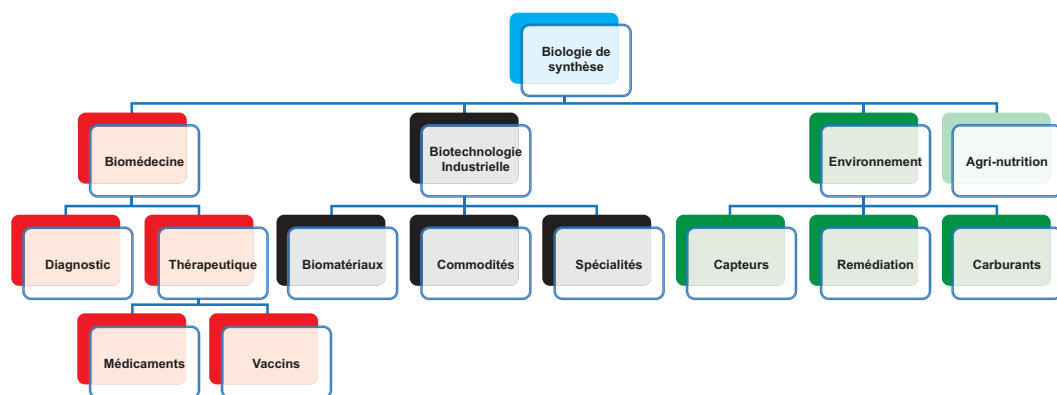


Figure 2 : Versatilité et diversité de la biologie de synthèse en termes d'applications biotechnologiques

Il serait utile de discuter de l'apport des approches computationnelles, d'autant que nous venons de voir que c'est l'un des marqueurs qui distingue la biologie de synthèse de formes plus traditionnelles de biotechnologie. S'agit-il d'un snobisme ou d'une nécessité ? En fait la nécessité apparaît en corollaire de la complexité des objets à construire. Ce point essentiel réclame explication. Dans une interaction biochimique, la réponse biologique n'est jamais proportionnelle à la dose appliquée ; on dit que la réponse n'est pas linéaire. Lors d'une interaction

n'impliquant que deux partenaires biomoléculaires, un scientifique expert est généralement capable de prédire de tête ce qui va se produire. À partir de trois partenaires interagissant paire à paire, ce n'est plus le cas. En effet, d'une interaction, on est passé à trois, chacune étant non-linéaire. Pour douze partenaires (actuel plafond approximatif des réalisations ingénierales), on compte 66 interactions, etc. Dès trois-quatre partenaires mis en jeu dans le circuit biochimique, l'expert a besoin de s'outiller pour émettre une prédiction fiable. L'outil incontournable est la modélisation mathématique des interactions et leur simulation numérique par voie informatique (phases 1-2 ci-dessus, dites de conception). Le besoin de multidisciplinarité apparaît donc comme une conséquence de la complexité des circuits biochimiques qu'il s'agit de construire. Ce fait n'empêche pas de chercher à réduire la complexité des objets à concevoir et construire. Cette réduction de complexité est permise par un autre aspect central de la biologie de synthèse, la normalisation des composants et des méthodes de leur assemblage. Il convient de noter que cette normalisation aura aussi pour conséquence de potentialiser les méthodes algorithmiques et informatiques en les appuyant sur un corpus croissant de connaissances quantitatives sur les composants et dispositifs à assembler (par exemple sous forme de fiches spécifiant les propriétés d'un composant).

Bien entendu, il a été possible dans le passé de construire des circuits biochimiques de taille importante sans s'appuyer fortement sur des méthodes informatiques (voir le cas du PDO de Genencor dans le chapitre 3). Justement, ces rares cas illustrent à merveille la lourdeur d'une approche par essai et erreur, d'où découlent des coûts très importants en budget comme en temps. Au plan appliqué, c'est précisément le but de la biologie de synthèse que de réduire significativement l'effort nécessaire à un projet moyen ou gros, par la normalisation et le découplage entre conception et fabrication.

DÉMARCHES SCIENTIFIQUES

Malgré sa jeunesse, la biologie de synthèse recouvre déjà trois démarches sensiblement différentes entre elles.

La première approche consiste à construire des dispositifs ou des systèmes artificiels ayant un comportement spécifié, en assemblant des « briques »

réutilisables, standardisées, d'origine naturelle ou synthétique (Fig. 3). Les briques seront souvent des fragments d'ADN codant une fonctionnalité de base : par exemple une protéine, ou les signaux nécessaires à son expression. Plusieurs briques seront assemblées en un dispositif, en général un circuit biochimique (l'horloge de notre exemple précédent). Enfin, plusieurs dispositifs seront assemblés en un système cellulaire ou acellulaire (la pompe à insuline de notre exemple). Cette première approche s'appuie donc sur une hiérarchie constructiviste (procédant de bas en haut), sur la modularité et la réutilisation des éléments à assembler, sur la normalisation des composants et des méthodes menant à leur assemblage.

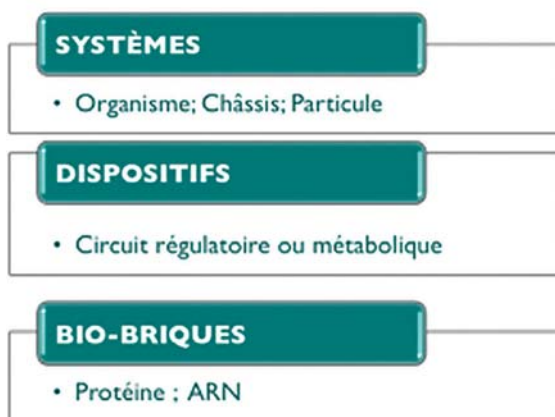


Figure 3 : Vision constructiviste de la biologie de synthèse

La seconde démarche consiste à réduire les génomes à une taille minimale, afin de mieux comprendre le fonctionnement des cellules et de créer des cellules-hôtes capables d'effectuer une bioproduction efficace (Fig. 4). Au plan fondamental, cela amène à mieux comprendre quelles sont les fonctions minimales nécessaires à la vie. Au plan appliqué, l'idée générale est qu'en réduisant les génomes, on diminue le coût énergétique de leur répllication, ce qui devrait accélérer la croissance de la cellule, et on fait de la place pour l'ADN codant les fonctions nouvelles que l'on souhaite insérer. Cette approche s'accommode bien d'une vision de la cellule-hôte comme un robuste châssis générique, réutilisable, servant d'usine miniature pour diverses productions. Son génome peut être modifié par les méthodes traditionnelles du génie génétique. Cependant,

de plus en plus fréquemment, le génome, ou une portion significative, sera synthétisé par voie chimique. En effet, le coût de l'écriture de l'ADN est en baisse, et l'état de l'art permettait en 2010 de synthétiser un génome d'un million de paires de bases, soit un petit chromosome bactérien. Il est à noter que les travaux de 2010 ont mené à un chromosome synthétique dont la séquence était quasi-identique à celle de l'organisme naturel. Ce fait symbolise bien la capacité de la technologie à synthétiser de l'ADN et sa faiblesse à concevoir *ex nihilo* un génome fonctionnel.

Enfin, il convient de rappeler qu'une part seulement de l'information héréditaire de la cellule réside dans son génome. Les autres informations héréditaires sont dispersées dans le reste de la cellule. On parle d'informations épigénétiques. Un exemple en serait l'état de l'horloge (l'heure qu'elle indique), qui effectivement est une information transmise aux deux cellules-filles lors de la division de la cellule-mère. L'ensemble de ces informations constitue l'épigénome. La dispersion de ces informations, en comparaison de l'actuelle facilité à lire et écrire l'autre information héréditable, celle du génome, explique que le défi de concevoir rationnellement un épigénome soit bien plus difficile que celui du génome.

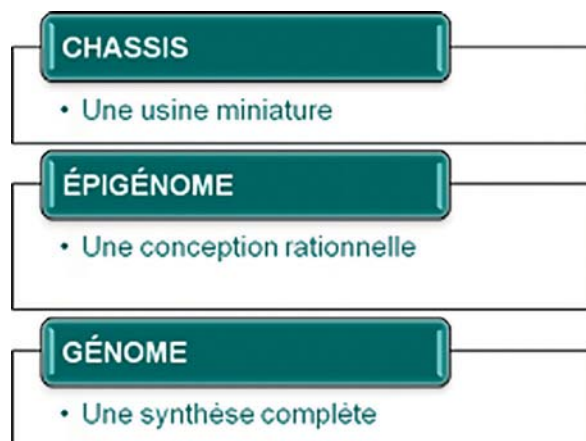


Figure 4 : Vision déconstructiviste de la biologie de synthèse « Génome minimal »

Quant à la troisième approche, elle consiste à reproduire, par l'assemblage de composants artificiels, le comportement émergent de la biologie naturelle, afin de mieux cerner le phénomène de la vie, ses contraintes et ses origines (Fig. 5).

Une protocellule est chimiquement une petite bulle ou vésicule, entourée d'une membrane faite de corps gras ou lipides, enfermant de l'eau et des composés solubles dans l'eau. Cette définition est aussi celle des liposomes des crèmes de beauté. Dans tous les cas, le corps gras et les composés hydrosolubles sont choisis pour obtenir les effets souhaités. Au niveau des applications, la différence tient à la sophistication de leur chimie et de l'objectif recherché. Certains liposomes sont utilisés pour atténuer les effets de l'âge sur nos peaux. Des effets plus subtils et plus complexes sont recherchés pour cibler spécifiquement des produits destinés, par exemple, à détruire une tumeur cancéreuse ; l'objectif du ciblage est que ces produits agissent de manière concentrée sur la tumeur, mais n'entraînent pas d'effets secondaires sur d'autres tissus. Dans ces cas plus sophistiqués, on parle plutôt de protocellules. Les recherches sur les origines de la vie font aussi appel aux protocellules, vues ici comme une forme de vie ancestrale possible. Elles sont souvent « élevées » et observées dans des chambres microfluidiques. Il est improbable que le précurseur de la vie sur la terre y ressemble, mais l'intérêt est plutôt d'étudier une propriété d'une cellule vivante, en tentant de la reproduire *a minima*.

De manière plus générale, cette troisième approche vise à faire interférer le moins possible (on parle parfois d'« orthogonalité ») les systèmes synthétiques avec la particule ou cellule qui les accueillent. D'où la recherche de nouveaux métabolismes, aminoacides, nucléotides, codes génétiques ou, plus délicat, codes de l'expression des gènes.



Figure 5 : Vision orthogonale de la biologie de synthèse, et protocellules

PRINCIPES FONDATEURS

La description ci-dessus fait apparaître plusieurs principes fondateurs de la biologie de synthèse (les mots-clés sont mis en caractères gras).

- ▶ 1 – La **normalisation** des composants ou briques doit favoriser l'industrialisation, comme il en a été pour les transistors. Elle touche aussi les méthodes d'assemblage des composants.
- ▶ 2 – Cette normalisation ouvre la voie à la **réutilisation** des mêmes briques pour des compositions variées.
- ▶ 3 – Plusieurs briques sont assemblées en dispositif, par exemple une horloge. Plusieurs dispositifs sont assemblés en système, par exemple la pompe à insuline, au sein d'une cellule vivante ou d'une particule. La biologie de synthèse constructiviste se veut donc **hiérarchique**.
- ▶ 4 – Un dispositif ou système devrait montrer un comportement **indépendant du contexte** où on l'installe, par exemple de sa cellule-hôte ou de son milieu. Par analogie, les caractéristiques d'un transistor dépendent peu du circuit électronique dans lequel on le branche. Cette indépendance du contexte est souvent qualifiée de **modularité** du dispositif synthétique par rapport à son hôte.

Il est à noter que ces caractéristiques ne sont pas faciles à obtenir en biologie et d'importants efforts de recherche seront nécessaires pour s'approcher de ce Graal. Enfin, les systèmes naturels sont généralement peu hiérarchiques et modulaires, mais cela n'interdit aucunement à l'ingénieur d'y glisser des dispositifs possédant ces propriétés.

Finalement, le potentiel de la biologie de synthèse ne peut pleinement s'apprécier si l'on oublie l'état d'esprit qui anime ses acteurs. Le fait de vouloir faire de la biotechnologie une véritable ingénierie fixe quelques objectifs précis, résumés dans les mots-clés communs à toutes les sciences de l'ingénieur et que l'on retrouve ci-dessus. Pour reprendre un exemple, l'ingénieur souhaite que les propriétés du circuit qu'il implante dans une cellule soient indépendantes du contexte cellulaire, que son circuit continue de respecter sa feuille de spécification quel que soit son hôte et son état physiologique. Les biologistes savent bien qu'une telle indépendance du contexte n'est pas réalisable aujourd'hui. Cependant, le simple fait d'avoir fixé cet objectif amène

les scientifiques à progresser dans sa direction. Or, il y a quinze ans, personne ne songeait à fixer cet objectif, donc les progrès dans cette direction étaient aléatoires, et nécessairement plus lents.

ÉMERGENCE

Au cours de ces quinze dernières années, une fertilisation croisée s'est opérée entre les découvertes des sciences biologiques et celles d'autres disciplines. Les développements en biologies moléculaire, structurale et systémique, et en modélisation et simulation, ont ouvert la voie à la biologie de synthèse (Fig. 6).

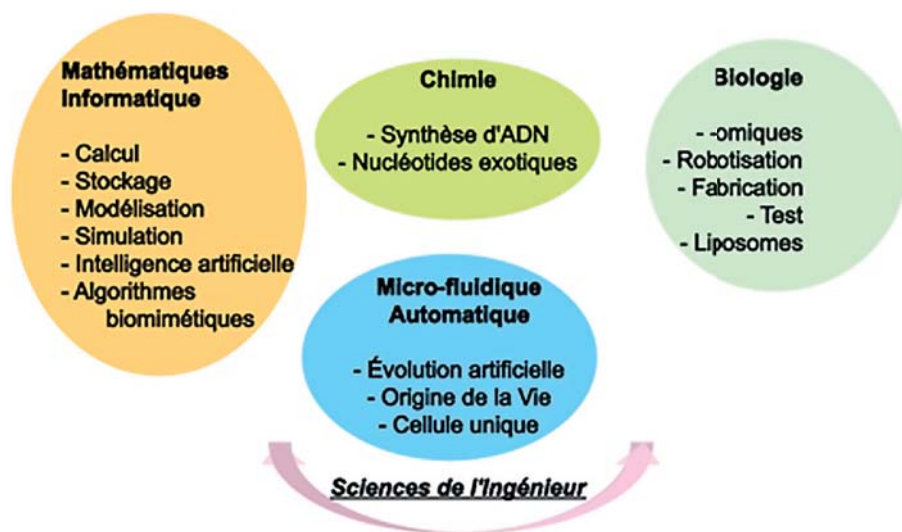


Figure 6 : Composantes disciplinaires contribuant à l'émergence de la biologie de synthèse, irriguées par les sciences de l'ingénieur

En voici quelques jalons. En 1995, le premier génome bactérien est séquencé, et le premier long gène synthétisé. En 1999, le premier génome viral est synthétisé. En 2000 est démontrée la faisabilité de concevoir rationnellement des circuits de régulation et de les implanter dans des bactéries ; le génome humain est séquencé. En 2003, un repli (« fold ») protéique non naturel est conçu et réalisé.

En 2008 un génome bactérien est pour la première fois entièrement re-synthétisé de façon artificielle. En 2010 il est introduit avec succès dans une bactérie hôte. En 2011 un des quatre nucléotides de l'ADN est remplacé par un substitut non-naturel dans l'ADN d'une bactérie vivante.

Les progrès – exponentiels – réalisés par les deux technologies-clé de lecture (séquençage) et d'écriture (synthèse) de l'ADN ouvrent la voie à une ingénierie des génomes à grande échelle.

- L'analyse de l'ADN par séquençage permet de révéler le contenu génétique d'un organisme donné ; les progrès réalisés par cette technologie ont permis le succès du projet de séquençage du génome humain.
- La synthèse d'ADN permet de produire des composants génétiques de base. Un génome de virus (comportant quelques 50 000 bases ou nucléotides) peut aujourd'hui être construit en quelques semaines, et un petit génome de bactérie (comportant de l'ordre de 1 million de nucléotides) a même été construit en 2010 par le généticien américain John Craig Venter. Les méthodes établies faisant appel à l'ADN utilisent le matériel génétique d'organismes existants. La biologie de synthèse s'affranchit de cette limitation : elle conçoit et fabrique toute séquence d'ADN utile à son objectif.

La productivité et la fiabilité de ces deux technologies-clé s'accroissent rapidement, cependant que leur coût chute. Une étude du département de l'énergie américain estimait que le marché global du séquençage de génome et des services associés (liés ou non à la biologie de synthèse) dépassait les 5 milliards d'euros en 2006 (Fig. 7).

Le marché annuel de la biologie de synthèse était estimé à 0,5 milliard d'euros en 2006 et il devrait atteindre 3 milliards en 2016. D'autres estimations sont plus optimistes ; en particulier, la firme indépendante Lux Research estime qu'avant 2015 un cinquième du chiffre d'affaire de l'industrie chimique américaine (estimé actuellement à 1 800 milliards de US\$) pourrait dépendre de la biologie de synthèse. Bien que ce dernier chiffre soit probablement très exagéré, la tendance est largement positive.

La biologie de synthèse est un domaine techno-scientifique émergent se développant rapidement. C'est un futur poids-lourd économique. Le forum économique mondial de Davos l'a dès 2012 nommée « technologie émergente

prioritaire » et l'a classée seconde par ordre de potentiel pour fournir des solutions aux défis globaux qui se posent à l'humanité. Sur son versant appliqué et industriel, il est probable que le développement de la biologie de synthèse ressemblera par sa dynamique à celui de l'industrie informatique, mais avec un décalage de 30-50 ans. Son stade actuel évoque en effet celui de l'industrie informatique dans ses tous premiers jours. Une analogie peut aussi être proposée avec les nanotechnologies, cette fois avec un décalage de 15-20 ans. Comme l'informatique et les nanotechnologies, la biologie de synthèse est susceptible de changer totalement notre approche de certaines technologies-clés, ouvrant ainsi la voie à une nouvelle génération de produits, d'industries et de marchés construits sur nos capacités à manipuler la matière au niveau moléculaire.

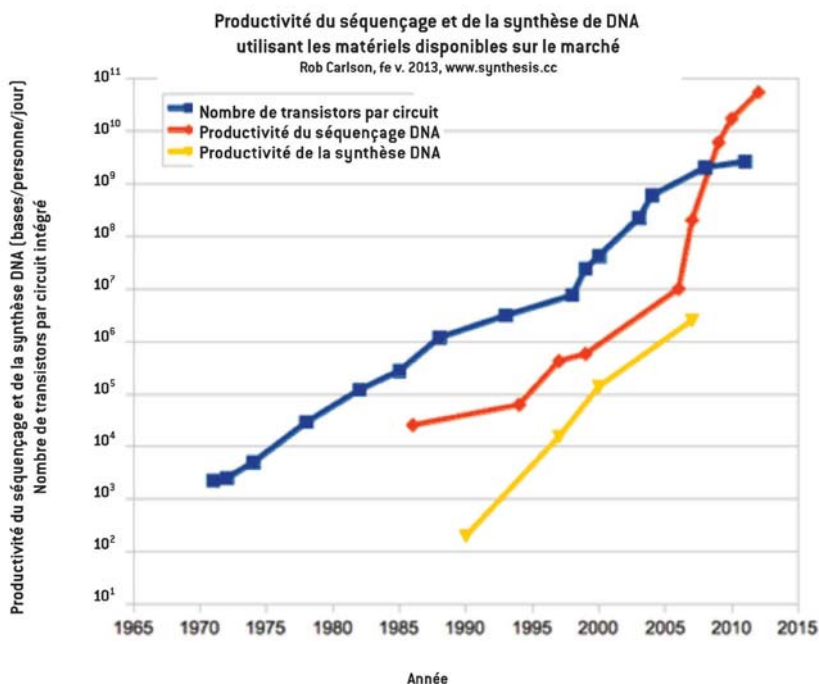


Figure 7 : Évolution de la productivité de la lecture (séquençage, rouge) et d'écriture (synthèse, jaune) de l'ADN en usant d'instruments commercialisés. Ceci est comparé au nombre de transistors par puce électronique (bleu). D'après Rob Carlson, février 2013 www.synthesis.cc.

BÉNÉFICES DE LA BIOLOGIE DE SYNTHÈSE

Les scientifiques estiment que ce domaine émergent offrira des bénéfices médicaux, environnementaux et sociétaux, tout en améliorant notre compréhension des processus biologiques.

La biologie de synthèse a déjà concrétisé des succès dans les « biotechnologies blanches », comme décrit dans les chapitres 1 et 3 de ce rapport.

Il est toutefois trop tôt pour prédire les domaines où se situeront ses applications les plus importantes. Il semble cependant probable que la biologie de synthèse renouvellera l'arsenal technologique pour :

- ▶ de nouvelles techniques moins polluantes, des outils améliorés de diagnostic, de nouveaux médicaments et vaccins ;
- ▶ des capteurs ou des senseurs ;
- ▶ des outils innovants de bioremédiation pour traiter les contaminations dans l'environnement (mais il y a controverse sur l'opportunité de disséminer de tels produits dans l'environnement) ;
- ▶ des outils supplémentaires au service des matériaux « intelligents ».

LA RECHERCHE PUBLIQUE EN BIOLOGIE DE SYNTHÈSE

Aux États-Unis

Les États-Unis dominent la scène internationale en matière de biologie de synthèse, tant par le financement que par le nombre élevé des scientifiques impliqués, de leurs publications et des cursus de formation. Le fait que cette recherche soit mieux établie outre-Atlantique permet de dégager certaines tendances. Les financements proviennent du *National Institute of Health* (NIH), de la *National Science Foundation* (NSF), mais aussi des agences relevant des secteurs de la défense et de l'énergie. Depuis 2012, c'est le Département de la défense (DoD) qui fournit le plus important budget de la recherche en biologie de synthèse aux États-Unis.

En Europe

Le 6^e programme-cadre de l'Union européenne avait mandaté NEST (*New and Emerging Science and Technology*) pour financer des lignes de recherche innovantes et prometteuses. En 2003, la biologie de synthèse fut identifiée comme répondant à ces critères, alors même qu'aucune communauté scientifique européenne ne semblait exister. Cela a entraîné le financement de dix-huit projets, dont les plus tardifs se sont achevés en fin d'année 2009. Parmi eux, cinq projets, dont Synbiology (déjà mentionné), avaient pour objet de stimuler et coordonner la biologie de synthèse en Europe, afin d'en améliorer la compétitivité et d'en maximiser les bénéfices économiques. Le 7^e programme-cadre a lancé ses appels d'offre en biologie de synthèse dans le cadre de la « bioéconomie basée sur la connaissance » (**Knowledge-Based Bio-Economy** - KBBE). Quelques équipes françaises font actuellement partie des consortia de ce programme. Le 8^e programme-cadre H2020 prévoit quelques appels d'offre en biotechnologie dès 2014.

La France participe à travers l'ANR et le CNRS au réseau de l'espace européen de recherche en biologie de synthèse, ERASynBio (2012-2014).

Depuis 2010, le Royaume-Uni a clairement pris la tête en Europe, en mettant en place plus de 170 millions d'euros en fonds publics destinés aux appels d'offre compétitifs labellisés *Synthetic Biology*. Ces fonds soutiennent la recherche de base, le transfert technologique et la structuration en centres de taille importante. Le *Synthetic Biology Leadership Council*, co-présidé par le ministre des universités et de la science, est chargé depuis 2012 de stimuler et coordonner les activités dans ce domaine.

En France

La présence française dans les projets européens dédiés des 6^e et 7^e programmes-cadre a été significative. TESSY, un des cinq projets de coordination NEST susmentionnés, avait recensé en 2008 trente-huit équipes françaises impliquées (ou susceptibles de l'être) dans la biologie de synthèse. Selon des critères académiques stricts de reconnaissance internationale, ce nombre devait être divisé par dix environ pour évaluer l'existant, qui en 2008 se concentrait à Genopole Évry. Aujourd'hui l'institut de Biologie des Systèmes et de Synthèse (iSSB) de

Genopole compte une cinquantaine de chercheurs. Un second point focal s'est entre temps dessiné à Toulouse, avec certains composants du démonstrateur Toulouse White Biotechnology.

Tableau 1. Projets conduits dans le cadre du démonstrateur préindustriel « Toulouse White Biotechnology »				
Projet	Partenaire	Co-Financier	Coût total(M€)	Objectif Produit
SYNTHACS	ADISSEO	ANR PIA*	8	Composés pour l'alimentation animale
PROBIO 3	AIRBUS	ANR PIA*	24,6	Biocarburant pour l'aéronautique à partir d'huiles microbiennes
THANAPLAST	CARBIOS	Bpifrance	22	Plastiques biodégradables issus du recyclage à fin de vie

D'autres forces existent ailleurs, de manière plus dispersée.

D'autre part, la première équipe française ayant participé à la compétition internationale de biologie de synthèse iGEM avait remporté le premier prix de recherche fondatrice, en 2007, au MIT (*Massachusetts Institute of Technology*). Plus récemment, ce sont entre quatre et six équipes françaises qui se sont présentées chaque année à cette compétition, souvent avec de jolis succès.

Sept compagnies biotechnologiques ont un profil de biologie de synthèse, dont cinq à Évry, une à Clermont-Ferrand et une à Montpellier. Il existe donc en France un gisement significatif d'expertise et des acquis solides dans le domaine.

En France, il y a non pas des programmes de financement dédiés, mais quelques appels d'offre compatibles avec le champ d'application considéré. Manifestement, ces financements sont trop dilués pour pouvoir anticiper les enjeux concrets de la biologie de synthèse. En outre, ils peinent à reconnaître le mérite de projets transdisciplinaires, comme il est usuel en l'absence de fonds dédiés spécifiquement à un domaine multidisciplinaire. Le premier financement dédié sur fonds publics est lié à un appel d'offres transnational à projets en biologie de synthèse organisé par ERASynBio. L'Agence nationale de la recherche apporte au pot commun un million d'euros pour la part française totale des projets de 3 ans s'étalant sur 2014-2016. À titre de comparaison, c'est le coût annuel d'un petit projet européen.

Chapitre 3

DE LA SCIENCE À LA RECHERCHE INDUSTRIELLE DANS LE DOMAINE DES BIOTECHNOLOGIES BLANCHES, EN FRANCE ET À L'ÉTRANGER⁷

INTRODUCTION

Le domaine des **biotechnologies blanches** est né de la colorisation des biotechnologies au milieu des années 2000. L'objectif était d'attirer les investissements vers les applications industrielles des biotechnologies, c'est-à-dire la production de composés d'intérêt pour les secteurs de la chimie, des matériaux et de l'énergie. Il fallait pour cela distinguer schématiquement ce domaine de celui de la santé (**biotechnologies rouges**), objet quasiment unique de l'attention des financiers du fait des retours potentiels. Il fallait également rassurer sur les problèmes possibles d'acceptation par le public en soulignant que les microorganismes seraient utilisés exclusivement en

⁷ Auteur: Pierre Monsan, Professeur émérite INSA Toulouse et Mines ParisTech, Membre Senior de l'Institut universitaire de France.

milieu confiné et contrôlé, sans risque de dissémination dans l'environnement, comme cela est le cas pour les végétaux (**biotechnologies vertes**). C'est ainsi qu'a vu le jour le domaine d'investissement des **cleantechs**, conjonction de la double prise en compte des préoccupations environnementales, dans un contexte de réchauffement climatique de plus en plus évident, et de pénurie annoncée des sources de carbone fossile. La nécessité de développer des procédés moins énergivores et plus éco-compatibles, basés sur des sources de carbone renouvelable, est alors devenue un axe de développement prioritaire pour de nombreux pays.

Les biotechnologies blanches sont une excellente illustration de la relation directe et immédiate entre une recherche fondamentale du meilleur niveau de créativité dans les sciences de la vie et la possibilité de développement d'applications industrielles. Le vivant demeure l'une des dernières grandes frontières pour les chercheurs. Sa magie est encore inexpiquée, même si l'élucidation de ses secrets avance à grands pas, grâce à des méthodologies analytiques de plus en plus performantes. La transformation de microorganismes en « usines cellulaires » pose donc à la fois des problèmes éthiques de fond et des problèmes très concrets de performance indispensable à la viabilité économique des procédés correspondants.

Il faut souligner à ce niveau que l'homme cherche depuis toujours à répondre à ses besoins en modifiant le vivant, animal et végétal d'abord, puis microbien. Le but demeure toujours le même. Ce qui évolue, ce sont les connaissances et les outils méthodologiques.

L'industrie de la fermentation s'est développée à partir du milieu du ^{xx}e siècle pour la production d'antibiotiques, d'acides aminés et organiques, d'enzymes, d'éthanol et de biopolymères à partir de mélasses et d'hydrolysats d'amidon. Les échelles atteintes sont conséquentes (90 Mt/an pour l'éthanol). L'acide aminé L-thréonine est produit en Picardie par Ajinomoto depuis le début des années 1990 à l'aide de bactéries (*Escherichia coli*) modifiées génétiquement. De même, les microorganismes transgéniques sont utilisés pour produire environ 95 % des enzymes industrielles.

Quels sont donc les éléments qui ont permis de renouveler ce secteur industriel et d'en faire la base d'une future « bioéconomie » reposant sur la transformation microbienne ou enzymatique de matières premières d'origine agricole ?

LES PRINCIPALES AVANCÉES SCIENTIFIQUES

Au cours des dernières années, la connaissance et la compréhension du fonctionnement des systèmes vivants, notamment au niveau de leurs mécanismes de régulation, a extraordinairement progressé. Le domaine de la « biologie des systèmes », prenant en compte l'ensemble d'un système biologique dans son environnement, a bénéficié de progrès méthodologiques impressionnants.

Les principales évolutions se situent aux niveaux suivants :

Séquençage et synthèse de l'ADN

En dix ans, le coût du séquençage de l'ADN est passé de 0,25 \$ à $0,31 \times 10^{-5}$ \$ par paire de bases. Il a fallu quinze ans et 3 milliards de dollars pour le premier séquençage de génome humain, alors que quelques milliers de dollars et quelques jours suffisent aujourd'hui. De même, dans le même laps de temps le coût de la synthèse de fragments d'ADN est passé de 25 à 0,35 \$ par base, ce qui met la synthèse de gènes à la portée pratiquement de n'importe quel laboratoire.

Le séquençage partiel du génome d'un individu s'est tellement banalisé que des applications médicales se développent très rapidement à la fois à des fins diagnostiques et à des fins thérapeutiques pour s'adapter au mieux aux cas individuels. On a pu constater également que le patrimoine génomique d'un nouveau-né contenait 60 à 80 mutations par rapport aux ADN parentaux, dont les effets étaient bien sûr très variables suivant leur localisation. Nous sommes donc tous, inévitablement, des transgènes « naturels » !

La combinaison d'étapes de synthèse chimique, enzymatique et biologique a permis à l'équipe de Craig Venter de synthétiser un chromosome entier de *Mycobacterium mycoides*, contenant 1 080 000 paires de bases. Ce chromosome a été introduit dans une bactérie du type *M. capricolum*, ce qui a permis, après élimination du chromosome d'origine de la souche hôte, de la transformer en *M. mycoides*. Il ne s'agit donc pas à proprement parler de création *ex nihilo* de « vivant », mais d'une modification de vivant préexistant.

Plus récemment, en avril 2014, a été publiée par l'équipe de Jef Boeke, la synthèse d'un chromosome d'eukaryote, le chromosome III de la levure *Saccharomyces cerevisiae*. Un nouveau pas a donc été franchi.

Métagénomique fonctionnelle

L'accès à la biodiversité microbienne s'est pendant très longtemps limité aux microorganismes pouvant être isolés et cultivés sur milieu solide ou en milieu liquide. Ceci ne permet d'atteindre qu'une fraction très partielle des microorganismes présents dans un biotope donné (sol, air, mer, système digestif humain ou animal...) : quelques pourcents au mieux. En effet, on est généralement confronté à des consortia microbiens très complexes dans lesquels des synergies sont solidement installées, tel microorganisme bénéficiant de tel ou tel métabolite produit par un autre microorganisme. L'isolement de chaque espèce microbienne nécessiterait le développement de milieux de culture spécifiques. Cette approche a été totalement révolutionnée par la possibilité d'extraire efficacement l'ADN, notamment bactérien, d'un tel biotope, de le découper en grands fragments (environ 40 000 paires de bases), d'insérer ces grands fragments dans des vecteurs pseudo-viraux (cosmides, fosmides) qui sont ensuite intégrés dans des hôtes microbiens tels que *Escherichia coli*, et d'exprimer enfin l'information génétique ainsi recueillie à partir de telles librairies appelées « banques métagénomiques ». Cette approche permet, en effet, de séquencer directement ces grands fragments d'ADN et de procéder à leur analyse « métagénomique » comme l'on procède à l'analyse « génomique » après séquençage du génome d'un organisme : on procède à l'identification des gènes présents et à leur annotation (supputation d'une fonction par analogie de séquence du gène identifié avec des séquences répertoriées dans les banques de données génomiques). Si le fragment d'ADN recueilli contient un élément d'information spécifique, tel que la zone codant l'ARN-ribosomal de la sous-unité 16S, il est possible d'identifier l'espèce du microorganisme à l'origine de ce fragment. L'analyse métagénomique de la flore intestinale humaine (microbiote intestinal) permet de caractériser et de mieux appréhender le fonctionnement de cette population, constituée d'environ un millier d'espèces microbiennes différentes, dont le rôle dans de nombreuses pathologies humaines est de plus en plus évident.

De manière complémentaire, la « métagénomique fonctionnelle » consiste à rechercher en premier lieu une fonctionnalité, par exemple une activité de dégradation de la cellulose, dans une banque métagénomique, et à ne séquencer que les fragments d'ADN provenant de clones microbiens présentant

effectivement cette activité. Il est alors possible, d'une part, d'identifier avec plus de sûreté le ou les gènes responsables de cette fonctionnalité et, d'autre part, du fait de la très grande taille des fragments d'ADN clonés, d'identifier d'autres gènes codant des activités complémentaires ou synergiques. Cette approche s'avère particulièrement intéressante lorsque l'on recherche des activités enzymatiques de dégradation de substrats complexes tels que les biomasses lignocellulosiques, par exemple. Elle permet également d'identifier des voies métaboliques originales.

Ingénierie enzymatique moléculaire

Il est aujourd'hui possible d'améliorer les caractéristiques fonctionnelles des catalyseurs enzymatiques en agissant directement au niveau de leur structure moléculaire. Le remplacement de tel ou tel acide aminé au niveau de la structure primaire va pouvoir se traduire par une amélioration de l'activité catalytique, de son affinité pour un substrat donné, de sa résistance à la dénaturation thermique, de sa tolérance à des variations de pH, de son énantiosélectivité, voire de la transformation d'une activité d'hydrolyse en activité de synthèse ou de la création d'une activité catalytique originale. Ces nouvelles méthodologies permettent de ne plus dépendre, comme c'était le cas à l'origine, que des enzymes « naturelles », essentiellement d'origine microbienne.

De telles modifications de la séquence des acides aminés peuvent être obtenues :

- soit par approche ciblée (**mutagénèse dirigée**) : la connaissance de la structure tri-dimensionnelle d'une enzyme, obtenue par diffraction de rayons X par les cristaux protéiques correspondants, ou dans certains cas par RMN, permet d'identifier et de localiser les acides aminés jouant un rôle-clé dans le fonctionnement (positionnement du substrat dans le site catalytique, acte catalytique lui-même...). Il est alors possible, par les techniques de la biologie moléculaire, de remplacer tel ou tel acide aminé par un autre par modification de la séquence des nucléotides du gène codant l'enzyme d'intérêt. On peut même le remplacer par les dix-neuf autres acides aminés (ou les douze principaux acides aminés) pour procéder à une **mutagénèse massive**. Ceci est très facilement réalisable du fait

du coût très abordable de la synthèse d'oligonucléotides et de gènes. On obtient ainsi une information très intéressante sur la fonction de chaque acide aminé essentiel au fonctionnement d'une enzyme ;

- soit par approche aléatoire (**mutagénèse au hasard**) : de nombreuses méthodes permettent, à partir du gène codant une enzyme donnée, de générer une très grande diversité de mutations. Pim Stemmer a joué un rôle de pionnier dans ce domaine en inventant le *DNA shuffling* en 1994 dans la société Affymax : le brassage de fragments de gènes permet de générer une nouvelle diversité. Ces gènes peuvent être au préalable modifiés de manière aléatoire, par exemple par copie à erreurs (*Error Prone PCR*). Ces approches aléatoires permettent de générer des banques de 10^6 à 10^{12} variants, dont le criblage impose de disposer de techniques à haut, voire très haut débit. Si l'on impose un critère de sélection à ces variants, par exemple la résistance à la dénaturation thermique, on peut ainsi, en réalisant des cycles successifs, sélectionner progressivement les variants les plus thermo-résistants et obtenir une véritable évolution dirigée. On peut ainsi mimer en peu de temps ce qu'a réalisé l'évolution des espèces en quelques milliards d'années ;
- soit en combinant approche rationnelle et approche aléatoire : la taille des banques de variants générées par des approches purement aléatoires est énorme et la diversité n'est pas toujours réellement au rendez-vous. Plutôt que de développer des cribles et des outils de criblage de plus en plus performants, il est donc préférable de combiner une approche rationnelle basée sur la connaissance de la structure 3D de l'enzyme cible et, éventuellement, sur des données de dynamique moléculaire obtenues également par modélisation *in silico*, afin d'identifier les acides aminés et/ou les zones de la protéine les plus « sensibles » et de procéder ensuite à une approche aléatoire focalisée sur ces zones.

Enfin, il est aujourd'hui possible de créer pratiquement *ex nihilo* une protéine présentant une activité catalytique donnée, non décrite dans la nature, à partir de l'état de transition d'une réaction chimique, comme l'a montré l'équipe de David Baker à l'Université de Washington, Seattle. Cela a été le cas pour des réactions d'élimination de Kemp, de rétro-aldolisation et de Diels-Alder. Ces travaux ont conduit à la création de la société Arzeda.

Métabolomique et fluxomique

La faisabilité d'un procédé de bioproduction suppose, surtout dans le cas de produits de commodité, d'optimiser le flux métabolique de carbone aboutissant au produit d'intérêt. Ceci repose sur une modélisation *in silico* de ces flux, constituant l'étape initiale de toute approche d'ingénierie métabolique.

Les progrès réalisés au cours des dernières années dans le domaine analytique, notamment de la spectrométrie de masse, de la RMN et de la chromatographie liquide permettent de caractériser le contenu moléculaire d'une cellule à un instant donné (métabolomique) et d'en suivre les variations au cours du temps (fluxomique) de manière de plus en plus performante. Ces données alimentent les modèles métaboliques utilisés pour prédire les performances d'un système biologique donné. Elles sont indispensables pour construire l'« usine cellulaire » la plus performante possible à partir d'un microorganisme de départ.

Ces méthodes analytiques facilitent, en particulier, le décodage des voies métaboliques grâce à l'utilisation de marquages par isotopes froids du carbone, de l'azote et de l'hydrogène. Leur couplage aux différentes -omiques (génomique, transcriptomique, protéomique ...) conduit à la caractérisation très précise du fonctionnement d'une cellule cultivée dans des conditions données.

Biologie de synthèse

L'OCDE a défini la biologie de synthèse, ou biologie synthétique, comme étant « l'ingénierie de composants et de systèmes biologiques qui n'existent pas dans la nature et la ré-ingénierie d'éléments biologiques existants ; elle porte sur la conception intentionnelle de systèmes biologiques artificiels ».

Ce domaine fait l'objet du deuxième chapitre de cet ouvrage et il est donc inutile d'en parler à nouveau.

Il faut insister sur le fait qu'au plan des biotechnologies industrielles ce que l'on met en œuvre relève essentiellement de l'ingénierie métabolique plus ou moins sophistiquée, beaucoup plus que de la biologie de synthèse. La modification de la bactérie *Escherichia coli* pour la production de 1,3-propanediol (PDO) par DuPont, en collaboration avec Genencor (devenu DuPont Industrial Biosciences en 2011), par exemple, a nécessité pas moins d'une quarantaine de modifications de gènes !

On est encore loin du rêve de Craig Venter de créer un *bug* minimal, ne possédant que le strict minimum de patrimoine génétique lui permettant de se perpétuer, et dans lequel il serait possible d'intégrer telle ou telle voie métabolique pour produire de manière optimale un composé d'intérêt.

LES PRINCIPALES APPLICATIONS INDUSTRIELLES

L'acide polylactique (PLA)

Le PLA est un polylactide produit par Cargill depuis 2002, à partir d'acide lactique provenant de la fermentation de D-glucose (obtenu par hydrolyse d'amidon de maïs) au sein de sa filiale NatureWorks LLC. L'usine de Blair (Nebraska) a une capacité de 140 kt par an. L'acide lactique est transformé par voie chimique, en présence de catalyseur organométallique (octanoate d'étain Sn (O₂Cr) 2) en un mélange de lactides (L-lactide, D-lactide et mésolactide), qui sont séparés par distillation. La polymérisation est également effectuée en présence d'octanoate d'étain. Le D, L-PLA est de structure amorphe. Il est biodégradable et biocompatible, ce qui permet ses applications biomédicales (fils de suture, implants...). Le L-PLA est semi-cristallin, ce qui se traduit par des propriétés de résistance mécanique et de dureté élevées. Ses principales applications se situent dans les domaines des fibres textiles (Ingeo®) et des emballages (Biophan®).

Le propane-1,3 diol (PDO)

Le PDO est utilisé comme bloc de construction de différents polymères et matériaux composites. Deux procédés d'obtention par voie biologique ont été développés :

- **à partir de glucose provenant d'hydrolysats d'amidon**, par DuPont, en collaboration avec Genencor (devenu DuPont Industrial Biosciences en 2011). La construction de la souche d'*Escherichia coli* produisant le PDO a mobilisé 200 ETP/an et a coûté 40 M€. DuPont s'est associé à Tate & Lyle (DuPont Tate & Lyle Bio Products LLC), dans le cadre d'un partenariat

50/50, pour implémenter en 2006 une usine ayant une capacité de 50 kt par an à Loudon (Tennessee). L'économie d'énergie réalisée par la voie biologique par rapport à la voie chimique est estimée à 40 %. Les principales applications du Bio-PDO® ainsi obtenu se situent au niveau de la production de fibres textiles polyester (Sorona®), de résines polyester insaturées (Susterra®) et de formulations cosmétiques et détergentes, en remplacement du propylène et du butylène glycol (Zemea®) ;

- **à partir de glycérol/glycérine**, par Metabolic Explorer, qui utilise une bactérie anaérobie, *Clostridium acetobutylicum*. La construction de cette souche a impliqué 32 ETP/an, entre 2007 et 2012. L'intérêt de ce procédé est de faire intervenir, dans la voie métabolique concernée, une enzyme du type glycérol déshydratase ne nécessitant pas l'addition de vitamine B12, contrairement au procédé développé par DuPont. Une usine ayant une capacité initiale de production de 8 kt par an a été envisagée en Malaisie, pour utiliser la glycérine provenant de la production de biodiesel à partir d'huile de palme comme matière première, mais finalement une licence de production a été accordée à la société chimique coréenne SK Chemicals en juillet 2014.

Acide succinique

L'acide succinique (acide butane-1,4-dioïque) est un diacide carboxylique aliphatique à quatre atomes de carbone présent dans le cycle de Krebs du métabolisme cellulaire. Il est utilisé comme aromatisant pour les aliments et les boissons et comme intermédiaire pour la synthèse chimique de nombreux produits (teintures, parfums, laques, produits pour la photographie, résines alkydes, polymères et produits pharmaceutiques). Il était initialement produit à partir d'ambre jaune. Son marché est évalué à 7,5 milliards de dollars.

La biosynthèse de l'acide succinique présente l'intérêt additionnel de consommer deux moles de dioxyde de carbone par mole de D-glucose pour donner deux moles d'acide succinique.

Quatre projets de production d'acide succinique par voie biologique ont récemment atteint l'échelle de production industrielle ou sont en cours de développement :

BioAmber

Issue d'un partenariat entre la société américaine DNP Technology et la société française ARD, BioAmber a démarré en 2013 une usine de production d'une capacité de 17 kt par an à Sarnia (Ontario), construite en partenariat avec Mitsui & Co. À terme, elle devrait produire 34 kt d'acide succinique et 23 kt de butane-1,4-diol (BDO, obtenu par hydrogénation de l'acide succinique, à l'aide d'une technologie DuPont) par an. Le procédé se décompose en deux étapes : une première étape de croissance des levures en bioréacteur de 175 m³ et une seconde étape de production dans deux bioréacteurs de 700 m³ chacun.

Reverdia

Reverdia est une société qui résulte du partenariat établi depuis 2008 entre les sociétés Roquette Frères et DSM, dans le cadre du programme BioHub financé par l'Agence pour l'innovation industrielle. Cette association 50/50 a été créée en 2010 pour produire de l'acide succinique (Biosuccinium®) à l'aide d'une levure opérant à bas pH. Un pilote industriel de capacité 10 kt par an a démarré fin 2012 à Cassano Spinola (Italie).

BASF

BASF et Purac (filiale de CSM, leader mondial dans le domaine de la production d'acide lactique) ont annoncé en 2012 la création d'une société en partenariat 50/50, Succinity GmbH, pour la production et la commercialisation d'acide succinique. Les compétences des deux sociétés en fermentation et purification sont ainsi associées. Cette décision fait suite à une collaboration de recherche initiée en 2009. L'acide succinique est produit par la bactérie *Basfia succiniciproducens*, qui est capable de métaboliser différentes matières premières renouvelables. Une capacité de production de 25 kt par an est en cours d'installation sur le site de Purac à Montmelo, près de Barcelone (Espagne).

Myriant

La société Myriant, créée en 2004 à Boston (États-Unis), dont l'actionnaire principal est PTT Global Chemical, a annoncé début 2013 le démarrage d'une unité de production d'acide succinique par voie biologique d'environ 15 kt à Lake Providence (Louisiane). Une unité destinée à la validation commerciale du produit a également été installée à Leuna (Allemagne) en collaboration avec la société

ThyssenKrupp Uhde. La réduction d'émission de gaz à effet de serre est estimée à 94 % par rapport au procédé de synthèse chimique à partir de matières premières fossiles. Le procédé utilise une bactérie du type *E. coli*.

Farnesane

La société Amyris, fondée en 2003 par Jay Keasling (Université de Berkeley), s'est faite connaître par le clonage et l'expression de la voie métabolique du mévalonate dans une bactérie, *E. coli*, puis dans la levure *Saccharomyces cerevisiae*, pour l'obtention de la biosynthèse de l'acide artémisinique, précurseur de l'artémisinine, un antipaludéen produit par l'armoise (*Artemisia annua*). La production de ce composé est en cours de développement industriel par la société Sanofi en Italie.

Cette même voie du mévalonate, qui aboutit à l'isopentényl pyrophosphate, peut être couplée avec la farnésène synthase, pour obtenir le farnésène (Biofene®), trimère (C15) de l'isoprène. La réduction de ce composé insaturé contenant trois doubles liaisons carbone-carbone par l'hydrogène conduit au farnesane, qui est un substitut *drop-in* du carburant kérosène (c'est-à-dire qui peut être directement substitué au kérosène dans un carburant aéronautique). Ceci a conduit Amyris à s'installer au Brésil, afin de bénéficier d'une source de saccharose compétitive. Les résultats techniques n'étant pas au rendez-vous, l'action de la société a perdu 90 % de sa valeur en mai 2012. Ceci a permis à la société Total, qui avait déjà investi dans son capital, d'en devenir l'actionnaire de référence et d'apporter son savoir-faire industriel. Les premières livraisons de produit ont débuté en février 2013 à partir du site de Brotas (État de Sao Paulo) et de sucre provenant du moulin de Paraiso. En juin 2013, à l'occasion du Salon du Bourget, un Airbus A321 a effectué un vol Paris-Toulouse aller-retour avec un des deux réacteurs CFM56 alimenté par un mélange de 90 % de carburant d'origine fossile et 10 % de biocarburant produit à partir de sucre par la technologie Amyris-Total.

Butanol

L'intérêt pour les composés à quatre atomes de carbone (C4) a récemment été relancé par le développement de la production de gaz de roche-mère en Amérique du Nord. En effet, cet accroissement de la disponibilité de gaz naturel risque de

se traduire rapidement par une diminution de la production de naphta (coupe légère provenant des vapeurs condensées du pétrole brut chauffé dans une tour de distillation). Or c'est cette coupe de naphta qui sert de matière première pour la production des composés en C4 tels que le butadiène et le butanediol. Ce risque potentiel de pénurie de naphta a donc relancé l'intérêt pour la production par voie biologique de composés en C4, et notamment de butanol, indépendamment du fait que ce composé présente un potentiel supérieur à celui de l'éthanol C2 au niveau de l'utilisation comme biocarburant *drop-in* en raison de son rapport carbone/oxygène plus favorable et de son taux d'incorporation possible plus élevé à l'essence. De manière générale, la production d'isobutanol est destinée à des applications comme carburant, tandis que la production de n-butanol est plutôt destinée à servir de plate-forme chimique pour l'obtention de dérivés.

Gevo et Butamax, aux États-Unis, se focalisent sur la production biologique d'isobutanol et ont été très occupés au cours de ces derniers mois par leurs actions en justice. Gevo poursuit son développement industriel sur le site de Luverne (Minnesota). Butamax, qui résulte de l'association de BP à DuPont, poursuit le développement de la production de butanol sur le site de Lamberton, Minnesota.

En Californie, Optinol, qui est le résultat d'une collaboration entre SynGest Inc., Unitel Technologies Inc. et le Centre d'agronomie de l'université d'État de Louisiane, prétend pouvoir produire du n-butanol au même prix de revient que l'éthanol. Ils utilisent une souche brevetée non-modifiée génétiquement de *Clostridium* sp., qui ne produit pas d'acétone et d'éthanol. La souche est mise en œuvre sous forme immobilisée dans un réacteur continu.

Green Biologics Ltd. (Royaume-Uni) développe également la production de n-butanol et d'acétone par des clostridies, dans le cadre d'une collaboration avec Easy Energy Systems (Columbus, Ohio), qui a modifié pour l'occasion son unité pilote de production d'éthanol d'Emmetsburg (Iowa). En 2012, trois productions ont été réalisées à partir d'un moût de maïs, à l'échelle d'un fermenteur de 40 m³. L'extrapolation au niveau d'un fermenteur de 80 m³ est actuellement en cours. Ce développement fait suite à la première production mondiale de n-butanol par Green Biologics en 2012 à Songyuan, en Chine, à partir de biomasse lignocellulosique (rafles de maïs), en partenariat avec Laihe Rockley Biochemical Ltd. à l'échelle d'un volume total de fermentation de 3 200 m³.

En août 2013, Rhodia (Solvay) et GranBio ont signé un accord pour produire du n-butanol au Brésil à partir de bagasse et de résidus de canne à sucre. Une unité de

production d'une capacité de 100 kt par an est prévue pour 2015. En août 2012, un partenariat entre Rhodia et Cobalt Technologies (fournisseur de la technologie) avait été préalablement annoncé pour construire une unité de démonstration de production de n-butanol au Brésil à partir de bagasse.

Isobutène

La société Global Bioenergies, basée à Évry, se focalise sur la transformation des glucides en hydrocarbures par des microorganismes modifiés par biologie de synthèse. Elle développe, en particulier, un procédé de production d'isobutène, qui peut ensuite être converti en carburants, matières plastiques, verre organique et élastomères. Pour cela, des voies métaboliques nouvelles, faisant intervenir des activités enzymatiques non décrites et des intermédiaires métaboliques n'existant pas dans la nature, ont été construites dans des bactéries. L'objectif est maintenant d'augmenter le taux de conversion de la source de carbone glucidique en composé d'intérêt. Un premier pilote industriel est en cours de réalisation sur le site de Pomacle-Bazancourt. Pour cela, l'Ademe a accordé un financement de 5,2 M€ à un consortium associant à Global Bioenergies les partenaires suivants : Arkema, deux laboratoires du CNRS (UCCS et IRCELYON), ARD et Processium. De plus, une unité pilote est en construction sur le site de Leuna, en Allemagne, dans le cadre d'une collaboration avec le centre Fraunhofer pour les procédés chimiques et biotechnologiques (CBP), également implanté à Leuna.

La production de butadiène et propylène est également envisagée. Les preuves de concept ont été validées au niveau de la faisabilité.

Le modèle d'affaires de Global Bioenergies est de concéder à terme des licences de production à des partenaires industriels.

Isoprène

GoodYear Tire & Rubber Co. a initié en 2007 une collaboration avec la société Genencor pour construire une bactérie du type *E. coli* capable de produire de l'isoprène (2-méthyl-buta-1,3-diène) à partir de D-glucose provenant de l'hydrolyse d'amidon. La polymérisation de ce pentadiène conduit à l'obtention du caoutchouc.

Ce succès scientifique et technique n'a cependant, pour l'instant, pas conduit à l'industrialisation du procédé. Le Groupe Ajinomoto travaille sur ce même sujet avec le fabricant de pneus japonais Bridgestone.

LES SOURCES DE CARBONE RENOUVELABLE

Tous ces procédés de transformation biologique reposent sur une source de carbone renouvelable. Il faut remarquer toutefois que n'importe quelle source de carbone est envisageable. On peut constater ici que si, à la fin des années 60, on envisageait de produire à l'échelle industrielle des protéines par bioconversion du pétrole en protéines (*steaks de pétrole*), aujourd'hui on essaie plutôt de produire des biocarburants à partir de diverses matières premières. Les temps ont changé ! Aujourd'hui, le prix du baril de pétrole et son évolution potentielle font qu'il est temps de prendre en considération l'utilisation de sources renouvelables issues de productions agricoles et forestières, de leurs coproduits et de déchets variés, notamment urbains.

La source de carbone a peu de poids économique dans la production de composés à haute valeur ajoutée, par exemple de biomolécules à activité pharmacologique. Par contre, elle peut représenter jusqu'à la moitié du prix de revient d'un produit de commodité (éthanol, notamment). Lorsque le rendement de conversion du carbone par un microorganisme est limité à 30 %, par exemple, cela définit immédiatement le prix de revient minimal du composé d'intérêt correspondant. Et il est bien difficile d'empêcher un microorganisme de vouloir se développer, se reproduire et fabriquer les autres molécules dont il a besoin pour vivre !

Ce coût de la matière première carbonée explique l'attractivité actuelle du Brésil, qui est le pays où le coût du sucre est le plus bas, compte tenu du fait que le résidu co-produit, la bagasse, est utilisé pour produire l'énergie nécessaire au procédé. C'est ce qui fait que le Brésil est le seul pays au monde où la production de bioéthanol a le plus de sens économique, indépendamment des subventions diverses et variées.

On distingue trois « générations » de sources de carbone renouvelable, et, donc, de biocarburants, produits de commodité par excellence :

Première génération (1G)

Le carbone renouvelable disponible aujourd'hui de manière fiable et économiquement viable, en quantité et en qualité, est directement issu de l'agriculture. Il s'agit essentiellement de glucides, le sucre (canne ou betterave) et l'amidon (maïs, blé, manioc, riz...), et de lipides (huiles végétales : palme, colza, tournesol, ricin, noix de coco...) et de leur dérivés (glycérol, glycérine).

Leur utilisation massive pour produire des biocarburants a été accusée de faire flamber les cours de ces matières alimentaires, de déclencher les « émeutes de la faim » et d'être à l'origine de déforestations massives. Bien que tout à fait discutables, ces accusations se sont traduites par la volonté politique de limiter la production de biocarburants de première génération, ce qui traduit en fait l'impossibilité de continuer à subventionner de manière importante ces produits dans le contexte économique actuel.

Deuxième génération (2G)

Il faut donc développer des sources alternatives de carbone n'ayant pas d'usage alimentaire, soit, à côté des déchets, en particulier d'origine urbaine, essentiellement des biomasses lignocellulosiques, d'origine agricole, agro-industrielle ou forestière, et tous les co-produits correspondants (rafles, bagasse, paille, son, pulpes, drèches, huiles de cuisson, déchets de bois...). On peut également envisager des cultures dédiées (miscanthus, jojoba...), mais à la condition qu'elles soient effectuées sur des sols impropres à la culture traditionnelle et qu'elles rémunèrent suffisamment les agriculteurs concernés.

Se pose alors le problème de la déconstruction de ces matières premières lignocellulosiques, inutilisables directement. De nombreux procédés sont développés ou en cours de développement par voie chimique (alcaline ou acide, organosolv), thermochimique ou biologique (cellulases et hémicellulases). L'exploitation des gaz de roche-mère limite aujourd'hui la viabilité des procédés de gazéification qui étaient en cours de développement aux États-Unis.

Le concept de « bioraffinerie » conduit à envisager une valorisation aussi complète que possible de la matière première d'origine végétale pour en assurer la viabilité économique. À côté de la valorisation des fractions glucidiques, cellulose

et hémicelluloses, celle de la lignine peut être cruciale. Dans cette optique, il faut également prendre en compte les coûts de collecte, et seuls les gisements présentant une réalité industrielle peuvent être pris en compte : bagasse et feuilles de canne à sucre au Brésil, rafles et tiges de maïs aux États-Unis, bois en Norvège et au Canada... Il faut noter que la consommation totale des glucides disponibles dans les hydrolysats de biomasse nécessite la construction de levures métabolisant les hexoses (glucose : C6), mais également les pentoses (xylose, arabinose : C5). C'est ce qu'ont réalisé en particulier DSM et Lesaffre.

Plusieurs projets de production d'éthanol « cellulosique » ont démarré aux États-Unis (DuPont, DSM, POET, INEOS Bio, KiOR) à partir de rafles et tiges de maïs, au Brésil (GranBio) à partir de bagasse et en Europe (Chemtex/Novozymes, Clariant) à partir de paille de céréales et de rafles de maïs.

Troisième génération (3G)

L'idéal sera dans le futur d'utiliser beaucoup plus simplement le dioxyde de carbone (CO₂) comme source de carbone et l'énergie solaire comme source d'énergie. C'est ce que réalisent les algues et les microalgues fonctionnant de manière autotrophe. Ces systèmes peuvent bien sûr également fonctionner en conditions hétérotrophes, en utilisant l'énergie chimique des glucides comme source d'énergie.

Plus de 2 milliards de dollars ont été investis dans le domaine de la production de biocarburants, aux États-Unis en particulier. On peut observer que la marine américaine (US Navy) s'est fortement impliquée dans le financement de recherches dans ce secteur.

Si la viabilité économique de telles cultures de microalgues est avérée pour la production de pigments et de composés d'intérêt nutritionnel, tels que les acides gras polyinsaturés (DHA...), la faisabilité industrielle pour la production de biocarburants reste encore à démontrer.

Des sociétés telles que Solazyme (Californie) sont en pointe dans ce secteur, avec des développements à l'échelle du pilote industriel en Iowa (Clinton), en Floride et au Brésil (en association avec Bunge sur le site de Moema). La production d'huiles à haute teneur en acide érucique et d'huiles à haute teneur en acide myristique est en cours de développement en collaboration avec la société

japonaise Mitsui. Un accord de fourniture d'acide érucique à la société Sasol Olefins & Surfactants a été signé, ainsi qu'un accord de fourniture d'huiles contenant des triglycérides spécifiques à AkzoNobel, pour application dans le domaine des peintures et des agents de surface. L'accord qui liait cette entreprise à la société Roquette Frères pour le développement d'applications nutritionnelles a été dénoncé en juin 2013.

Il faut également noter que les microalgues, telles que *Chlamydomonas reinhardtii*, peuvent produire de l'hydrogène dans certaines conditions de culture.

Conclusion

La conjonction de la raréfaction inéluctable des ressources fossiles (à quelle échéance ?), des préoccupations environnementales (diminution de la production de gaz à effet de serre, nécessité de développer des procédés plus éco-compatibles) et des progrès extraordinaires réalisés dans le domaine des sciences du vivant a conduit, au cours des dernières années, au développement de réalisations industrielles dans le domaine des biotechnologies blanches. Ces avancées ne doivent pas être dissociées du développement des procédés de chimie « biosourcés », car dans les deux cas la disponibilité de matières premières renouvelables de manière fiable et économiquement viable est un point essentiel. Le développement des biotechnologies blanches doit s'inscrire de plus en plus dans un cadre commun avec les autres procédés de transformation de ce carbone renouvelable, notamment chimiques et thermiques. C'est la condition incontournable de la création d'une véritable bioéconomie, génératrice de nouvelles filières industrielles.

Chapitre 4

RÉGLEMENTATION ET BIOLOGIE DE SYNTHÈSE⁸

INTRODUCTION

Le champ de la biologie de synthèse s'étend depuis le *redesign* de systèmes biologiques naturels pour obtenir des procédés et/ou des produits nouveaux jusqu'à la conception et la construction de nouveaux dispositifs et systèmes biologiques. Une telle diversité des champs couverts induit des discussions de classement et d'évaluation tant chez les chercheurs qu'au sein des instances de réglementation aux niveaux national, européen, voire mondial ⁹⁻¹⁰⁻¹¹⁻¹²⁻¹³⁻¹⁴.

⁸ Auteur: Jean Lunel, ancien président d'ORGANIBIO (Organisation nationale inter-professionnelle des bioindustries)

⁹ The BioBricks Foundation SB6.0 Conference, Imperial College London July 2013

¹⁰ Gordon Research Conference Synthetic Biology June 2013 (Re-) constructing and Re-programming Life

¹¹ Event report, Synbio workshop Paris December 2012 Risk assessment challenges of synthetic biology *Journal of consumer protection and food safety*, published on line July 2013

Pour faire simple, on peut diviser les approches de la biologie de synthèse en quelques grands domaines : l'ingénierie métabolique, les protocellules (structures vésiculaires où l'on reproduit des réactions cellulaires), les organismes « minimaux » ou à génome optimisé (par synthèse partielle ou complète d'un génome) et, enfin, la xéno-biologie utilisant des molécules non naturelles (bases modifiées par exemple) pour créer des produits et des systèmes totalement nouveaux. La limite entre les protocellules et les organismes minimaux peut être difficile à apprécier, la possibilité de réplication ou non devrait définir la frontière.

L'ingénierie métabolique peut se subdiviser en trois approches : hétérologue avec un donneur de gène(s) unique et un seul organisme accepteur, hétérologue multiple avec plusieurs donneurs de gènes et un seul organisme accepteur, multiple suivie de modifications biochimiques importantes pour créer, par exemple, de nouveaux gènes codant pour de nouvelles fonctions enzymatiques¹⁵. On peut proposer que les deux premières approches soient couvertes par le génie génétique, seule la troisième relèverait de la BS *stricto sensu*. On peut noter que des projets, voire des réalisations, conduisent ou conduiront prochainement à des essais de « dissémination volontaire » dans ce domaine (comme ARS0lux, cellule entière pour la biodétection lumineuse de l'arsenic dans l'eau potable, ou la production de strigolactones pour l'éradication de la plante parasite *Striga* en Afrique, ou l'utilisation de bactéries génétiquement modifiées pour l'extraction du cuivre).

¹² Rapport Assemblée Nationale/Sénat : Les enjeux de la Biologie de synthèse, Mme Fioraso Février 2012 <http://www.assemblee-nationale.fr/13/rap-off/i4354.asp>

¹³ Kenneth A. Oye The regulation of synthetic biology. A guide to US and EU regulations, rules, guidelines, This version is intended for use by NSF SynBERC and iGEM associated laboratories. The Regulation of Synthetic Biology http://synberc.org/sites/default/files/Concise%20Guide%20to%20Synbio%20Regulation%20OYE%20Jan%202012_0.pdf

¹⁴ A synthetic biology roadmap for the UK <http://www.epsrc.ac.uk/NEWSEVENTS/NEWS/2013/Pages/2013.aspx>

¹⁵ Curran KA, Alper HS (2012) Expanding the chemical palate of cells by combining systems biology and metabolic engineering. *Metab Eng.* Jul; 14 (4) : 289-97.

Ces trois approches ne sont qu'une extension des techniques du génie génétique utilisées et régulées depuis des dizaines d'années. Pour les encadrer, il suffit donc d'appliquer la réglementation existante, y compris en adaptant le statut d'auto-clone qui pourrait être étendu à des eucaryotes.

Les protocellules. Il s'agit de produire des constituants cellulaires à partir de produits purs (ARN par exemple) inclus dans des vésicules artificielles. Deux cas sont à envisager. Pour les protocellules contenant du matériel génétique, leurs capacités de réplication et/ou de transfert de ce matériel génétique devraient être évaluées. Une telle propriété qualifierait ces protocellules d'organismes, qui pourraient être couverts par la réglementation OGM. Pour les protocellules ne contenant pas de matériel génétique ou ne pouvant être qualifiées d'organismes, la réglementation relative aux substances chimiques devrait s'appliquer. Il s'agit là de recherches fondamentales menées au niveau du laboratoire¹⁶. On est très loin de la construction de la vie artificielle et tant qu'il n'y a pas de réplication, il n'y a pas d'organisme génétiquement modifié et donc pas de réglementation OGM à appliquer.

Les cellules minimales (approche *top down*). Il s'agit de réduire le génome d'un organisme à sa structure minimale pour maintenir ses fonctions de reproduction, ou de synthétiser le génome minimal et de l'introduire dans un réceptacle compatible dont le propre génome a été enlevé. On peut même faire la synthèse totale de génomes de virus ou de bactéries qui sont ensuite transférés dans une cellule sans génome pour amplification. Cette approche, tout comme les précédentes, n'a été rendue possible que par la diminution considérable des coûts de séquençage et de synthèse de l'ADN. Les coûts de reconstruction d'un gène sont, aujourd'hui, proches de ceux d'un clonage. Le seul bémol c'est qu'il est encore difficile de synthétiser de longues séquences d'ADN sans erreur. On peut, néanmoins, envisager de construire plusieurs génomes et seuls les réplicatifs seront repérés pour être éventuellement utilisés

Cette dernière facette de la biologie de synthèse pose le problème de la double utilisation possible : civile pour la construction de vaccins par exemple¹⁷ et

¹⁶ Noireaux V, Maeda YT, Libchaber A (2011) Development of an artificial cell, from self-organization to computation and self-reproduction. *Proc Natl Acad Sci USA* 108: 3473–3480.

¹⁷ Mueller S, Coleman JR, Papamichail D, Ward CB, Nimnual A, Fitcher B, Skiena S, Wimmer E (2010) Live attenuated influenza virus vaccines by computer-aided rational design. *Nature Biotechnol* 28 (7): 732–736

militaire pour construire des super-pathogènes destinés au bioterrorisme. Peut-on surveiller les commandes et la circulation de fragments d'ADN ou d'ARN destinés à synthétiser un virus super-pathogène ?

La xéno-biologie de synthèse se distingue de sa sœur, la biologie de synthèse, parce qu'elle met en jeu la modification des structures chimiques, à la base de l'information génétique, pour créer de nouveaux produits et systèmes¹⁸. Elle est proposée comme une solution possible pour diminuer, voire annuler, les risques de transfert de « transgènes » vers les organismes naturels qui ne possèdent pas la machinerie moléculaire pour les lire ou les reproduire. On peut dire que ces organismes sont chimiquement modifiés¹⁹. C'est un exemple intéressant parce que la survie de tels organismes dans l'environnement est théoriquement impossible – certains auteurs pensent néanmoins que la chimie de ces organismes restant basée sur le carbone, et les polymérases n'étant pas fidèles, ils pourraient avoir des capacités d'adaptation ; il serait donc nécessaire d'évaluer les capacités de survie de ces organismes. De façon encore plus sûre, les échanges de gènes par transfert horizontal ou reproduction sexuée seront impossibles. Concernant la réglementation, deux solutions sont théoriquement envisageables : soit un nouveau statut réglementaire soit, pour rester dans le cadre législatif actuel et ne pas séparer des domaines d'activité qui se recouvrent, une évolution et une extension de la définition des OGM intégrant la xénobiologie. En l'attente de toute évolution réglementaire, les développements de la xénobiologie devraient être restreints aux milieux confinés, et traités par les chercheurs, les utilisateurs, les évaluateurs, les autorités compétentes et gestionnaires de risques dans le cadre actuel de la réglementation OGM en milieu confiné, avec une évaluation au cas par cas qui serait adaptée aux spécificités des organismes concernés.

¹⁸ Leconte AM, Hwang GT, Matsuda S, *et al.* (2008) Discovery, characterization, and optimization of an unnatural base pair for expansion of the genetic alphabet. *J Am Chem Soc* 130: 2336–43.

¹⁹ Marliere P, Patrouix J, Doring V, Herdewijn P, Tricot S, Cruveiller S, Bouzon M, Mutzel R (2011) Chemical Evolution of a Bacterial Genome. *Angew Chem* 123: 7247–7252

LA RÉGLEMENTATION ACTUELLE EN FRANCE ET EN EUROPE

Le schéma ci-dessous donne l'essentiel de la réglementation européenne transposée dans chaque législation nationale en s'adaptant au contexte existant :

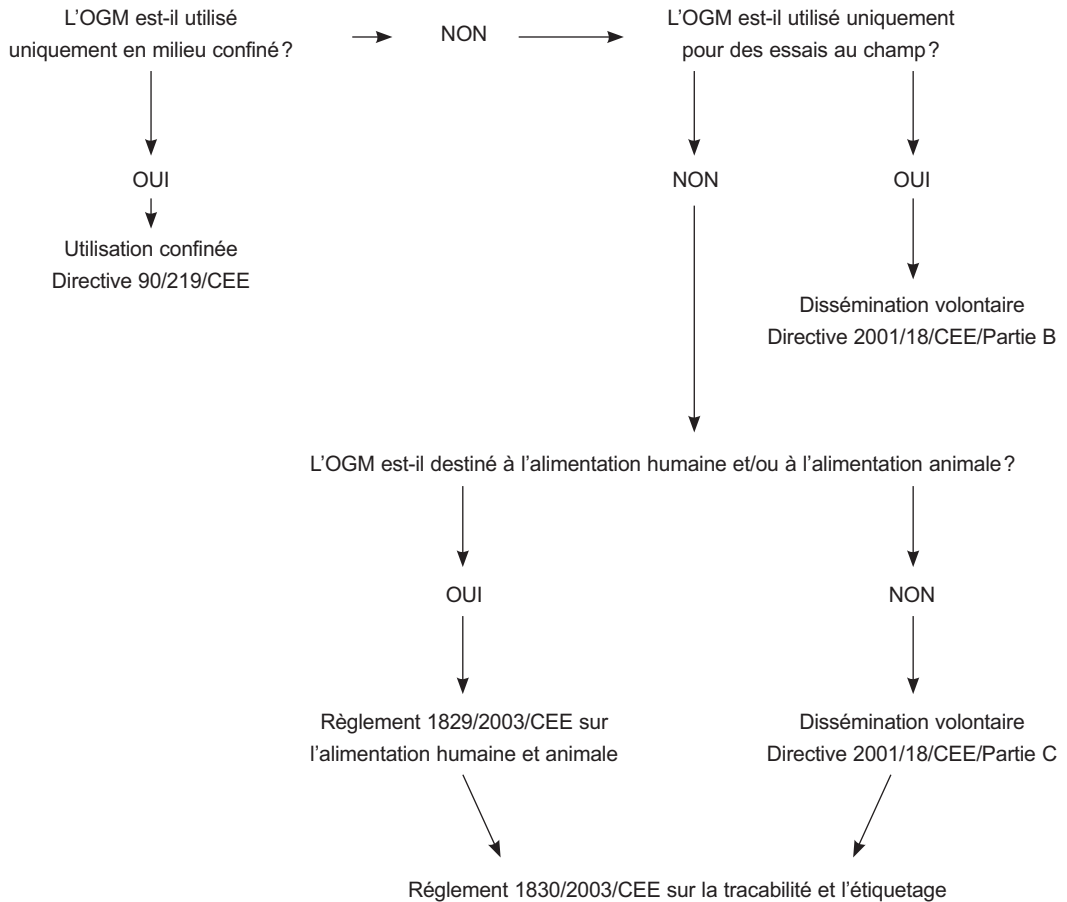


Figure 8 : La réglementation européenne

Il faut ajouter des directives européennes ou accords supplémentaires, essentiellement les suivants :

- 428/2009 sur le contrôle des exportations et la double utilisation civile et militaire ;

- ▶ accord européen concernant le transport international de substances par la route, signé le 30/09/1957 et modifié depuis, non spécifique de la BS mais applicable ;
- ▶ cadre légal européen de prévention des actes de bio terrorisme ;
- ▶ directive européenne concernant la responsabilité au regard de la prévention et de l'indemnisation des dommages environnementaux. Directive 2004/35/CE du Parlement européen et du Conseil du 21 avril 2004.

À cet ensemble se superposent les conventions et agréments internationaux comme :

- ▶ la convention sur la diversité biologique ;
- ▶ le protocole de Carthagène sur la prévention des risques biotechnologiques relatif à la convention sur la diversité biologique ;
- ▶ la convention sur les armes biologiques.

Pour la France, les ministères et autorités compétentes concernés par la définition du cadre légal sont le MESR, dans le cadre des utilisations en laboratoire, le MAAP pour les utilisations agronomiques, l'ANSM et l'ANSES pour les utilisations humaines et animales. Pour l'ensemble des questions, la nécessité de consulter le MEDDTL sur les questions environnementales qui existe actuellement pourrait être maintenue. En l'absence de textes propres à la BS, comme la majorité des techniques disponibles reste couverte par les textes sur les OGM, le Haut conseil des biotechnologies propose aux acteurs un guide qui synthétise les obligations de chacun en matière de déclaration et de contrôle selon le cadre réglementaire en cours (tableaux donnés en annexe 20). Les adaptations spécifiques qui pourraient se faire jour dans un avenir proche dans la loi française, les aspects d'utilisation détournée (Dual use) sont certainement les plus mûres. Ici encore, le cadre légal qui prévaudrait pour les OGM devrait couvrir sans difficultés la biologie de synthèse.

Le schéma donné en annexe pour le Royaume-Uni est un peu plus détaillé que le schéma ci-dessus.

²⁰ Manuel du haut conseil des biotechnologies www.hautconseil-des-biotechnologies.fr/.../Manuel_HCB_utilisation_confie et Communication du Pr. Jean Christophe PAGES, président du Comité scientifique du HCB

LA RÉGLEMENTATION US

On trouvera tous les détails nécessaires dans *Regulation of Synthetic biology*²¹. Pour faire simple, on peut dire que toute la partie recherche est réglementée par les *guidelines* du NIH et que la production, le contrôle et l'exportation de produits sont soumises aux réglementations de l'une des agences suivantes : EPA, USDA-APHIS, FDA, auxquelles il faut rajouter celles du US Commerce Department, du Select Agent Rule et enfin du Screening guidance for providers of synthetic double stranded DNA (voir annexe pour des détails sur ces deux derniers points).

Comme pratiquement tous les autres administrations étatiques, le NIH reconnaît quatre groupes de risques allant du non pathogène (*Bacillus subtilis*) au très pathogène (virus Ebola) qui sont manipulés dans des locaux de confinement (de C1 à C4).

Le NIH a publié un certain nombre de principes directeurs (voir tableau) que doivent respecter les chercheurs ; les dossiers soumis au NIH peuvent être classés en six catégories et doivent, pour quatre d'entre elles, recevoir l'approbation des structures suivantes :

- ▶ IBC²², RAC²³, directeur du NIH ;
- ▶ IBC et NIH/OBA²⁴ ;
- ▶ IBC et IRB²⁵ et RAC ;
- ▶ IBC ;

La cinquième catégorie n'a besoin que d'une déclaration et, enfin, la sixième englobe tous les essais qui ne nécessitent aucune déclaration. Le tableau ci-dessous, donne, selon le type d'essais, les guidelines US à respecter et les actions requises.

²¹ Kenneth A. Oye The regulation of synthetic biology. A guide to US and EU regulations, rules, guidelines. This version is intended for use by NSF SynBERC and iGEM associated laboratories. The Regulation of Synthetic Biology Version 10 page - Synberc

²² Institutional Biosafety Committee

²³ Recombinant Advisory Committee

²⁴ NIH Office of Biotechnology Activities

²⁵ Institutional Review Board

Table 1. Required Actions Under NIH Guidelines by Experiment Type		
Experiment Type	NIH Guideline Section	Required Actions
Experiments involving the deliberate transfer of a drug resistance trait (that could compromise the use of the drug to control disease agents in humans, animals, or plants) to microorganisms that are not known to acquire the trait naturally	Section III-A-1-a - "Major Actions"	IBC approval, RAC Review, and NIH Director approval prior to initiation of the proposed experiment
Experiments involving the cloning of toxin molecules with LD50 <100 nanograms/kilogram body weight	Section III-B-1	NIH/OBA and IBC approval prior to initiation of the proposed experiment
Experiments involving the deliberate transfer of recombinant DNA, or DNA or RNA derived from recombinant DNA into one or more human research participants	Section III-C-1	IBC and IRB approval and RAC review prior to research participant enrollment
Experiments using Risk group 5, 2, 3, 4 or restricted (select) agents as host-vector systems	Section III-D-1	IBC approval prior to initiation of the proposed experiment
Experiments in which DNA from Risk Group 2, 3, 4, or restricted (select) agents is cloned into nonpathogenic microbes	Section III D-2	IBC approval prior to initiation of the proposed experiment
Experiments involving the use of infectious DNA or RNA viruses or defective DNA or RNA viruses in the presence of helper virus in tissue culture systems	Section III-D-3	IBC approval prior to initiation of the proposed experiment
Experiments involving whole animals	Section III-D-4	IBC approval prior to initiation of the proposed experiment
Experiments involving whole plants to propagate such plants, or to use plants together with microbes or insects containing DNA or for other experimental purposes (e.g., response to stress).	Section III-D-5	IBC approval prior to initiation of the proposed experiment
Experiments involving more than 10 liters of culture	Section III-D-6	IBC approval prior to initiation of the proposed experiment
Experiments involving the formation of recombinant DNA molecules containing no more than two-thirds of the genome of any eukaryotic virus	Section III-E-1	IBC notice simultaneous with initiation of the proposed experiment

Experiment Type	NIH Guideline Section	Required Actions
Experiments involving whole plants not previously covered in Section III-D-5	Section III-E-2	IBC notice simultaneous with initiation of the proposed experiment
Experiments involving transgenic rodents	Section III-E-3	IBC notice simultaneous with initiation of the proposed experiment
Exempt experiments	Section III-F-1, Section III-F-2, Section III-F-3, Section III-F-4, Section III-F-5, Section III-F-6	N/A

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Nous donnons ci-dessous des extraits de la conclusion du rapport de Mme FIORASO intitulé *Les enjeux de la biologie de synthèse* du 15 février 2012 (page 118) :

« Au terme de cette analyse des différentes approches de l'évaluation et de la gestion des risques aux États-Unis et en Europe, l'ensemble des études menées à ce jour ne font pas apparaître de risques avérés vraiment nouveaux liés à la BS, autres que ceux déjà identifiés pour les technologies existantes. Les risques potentiels, à ce stade de développement, ne paraissent pas non plus nécessiter de nouvelles réglementations.

« De plus, l'accélération du transfert de la recherche à l'industrie favorise, dans le cas de la BS, le passage d'un milieu confiné et d'une production à petite échelle dans le laboratoire à une échelle industrielle et des risques de dissémination qui deviennent plus importants. Il paraît donc essentiel de mener, en parallèle à la recherche fondamentale et à la recherche appliquée de la BS, encore largement en amont des applications industrielles à grande échelle, des recherches en bio-sécurité, en biosûreté et en écotoxicologie.

« Il conviendrait également de développer la recherche fondamentale en biologie, avant de mettre sur le marché de façon précipitée des produits dont on ne connaîtrait pas suffisamment les propriétés, les évolutions et l'impact sur l'environnement, la santé, les pratiques et équilibres sociaux.

« C'est une nouvelle culture à acquérir et l'on peut regretter qu'elle soit insuffisamment préconisée dans les rapports publiés à ce jour. Par ailleurs, les conclusions de la recherche menée sur la toxicité et la sécurité de la BS devront être communiquées et expliquées, dans un langage compréhensible, à un public le plus large possible, en toute transparence.

« Enfin, compte tenu de la dimension internationale de la recherche, et du caractère perversif de la BS, il paraît nécessaire, comme plusieurs rapports l'ont déjà recommandé, de procéder à une réflexion et à une coopération européenne et internationale, afin d'harmoniser les procédures, réglementations et échanges, sur l'état de l'art des connaissances et des bonnes pratiques. »

Ceci est confirmé par d'autres rapports²⁶⁻²⁷⁻²⁸. L'Académie des technologies ne peut que souscrire à cette vision de la réglementation de la BS. L'on constate, en fait, que ces recommandations du rapport de Mme Geneviève FIORASO de février 2012 ont été, partiellement, suivies d'effets avec :

- ▶ des réunions internationales sur le sujet (Cf références 9,10,11) ;
- ▶ des réunions de quatre instances régulatrices européennes (Allemagne, Belgique, France, Pays-Bas) dans le cadre de SynBio (Synbio Workshop Paris décembre 2012), une autre a eu lieu les 16 et 17 octobre 2014, organisée par COGEM ;
- ▶ La création de l'observatoire de la BS localisé au CNAM ;

C'est dans ces directions qu'il faut continuer de suivre les avancées de la biologie de synthèse.

²⁶ Pauwels K, Willemarck N, Breyer P, Herman D (2012) *Synthetic Biology, latest developments, biosafety considerations and regulatory challenges*. Scientific report from the Biosafety and Biotechnology Unit, ScientificInstituteofPublicHealth, Belgium. http://www.biosafety.be/PDF/120911_Doc_Synbio_SBB_FINAL.pdf. Accessed 19 Apr 2013

²⁷ COGEM (2013) Synthetic Biology: Update 2013. COGEM topic report CGM/20130117-01. <http://www.cogem.net/index.cfm/en/publications/publicatie/synthetic-biology-update-2013>. Accessed 15 Apr 2013.

²⁸ Zentrale Kommission für die Biologische Sicherheit (2012) Monitoring der Synthetischen Biologie in Deutschland : http://www.bvl.bund.de/SharedDocs/Downloads/06_Gentechnik/ZKBS/01_Allgemeine_Stellungnahmen_deutsch/01_allgemeine_hemen/Synthetische_Biologie.pdf?__blob=publicationFile&v=3 Accessed 15 Apr 2013

Annexes du chapitre 4

Tableaux du HCB (p.58-59)

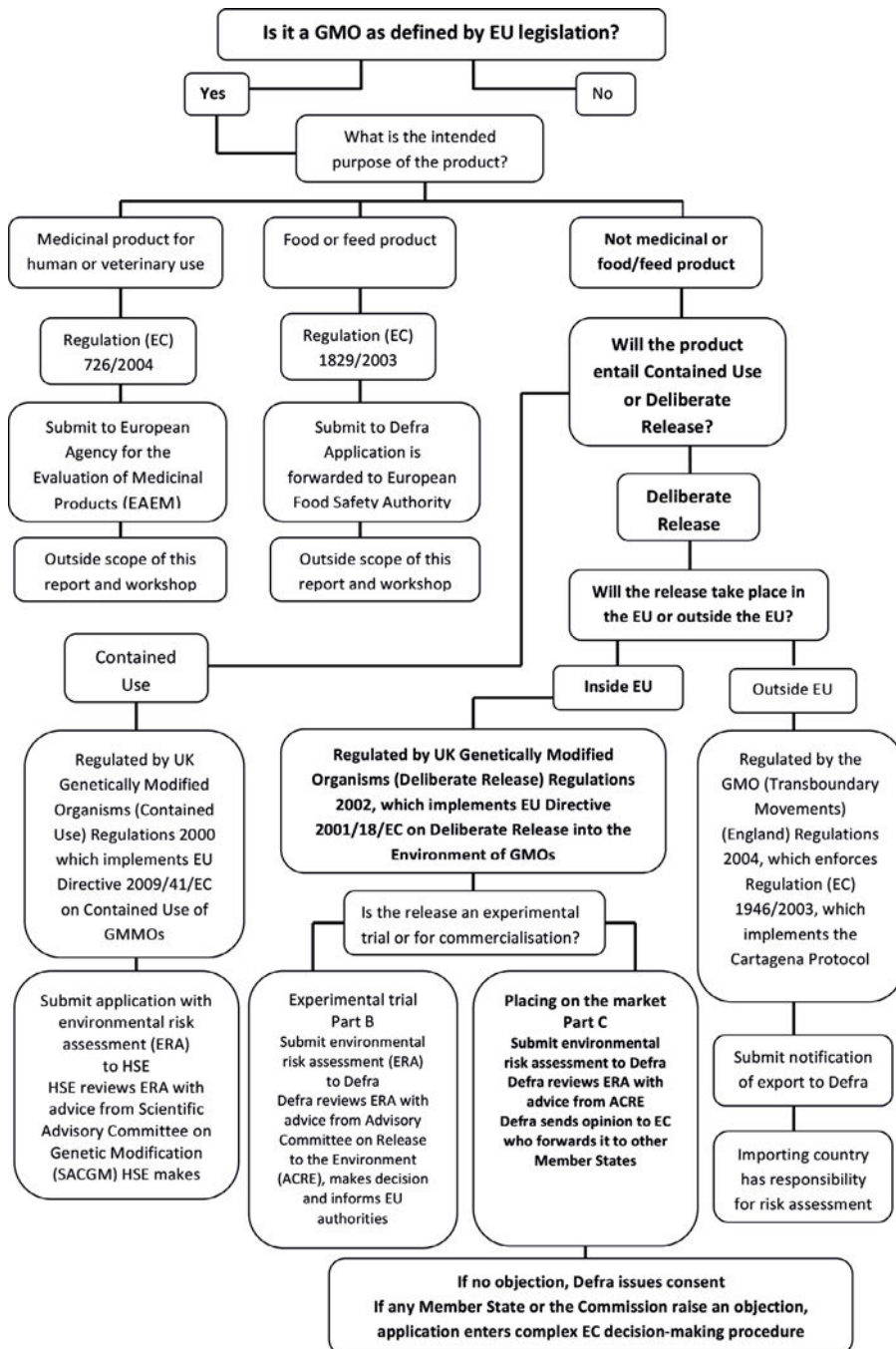
Réglementation américaine

Select Agent Rules (SAR)

Although not specifically aimed at regulating synthetic biology, the Select Agent Rules ([42 C.F.R. Part 73, 7 C.F.R. Part 331, and 9 C.F.R. Part 121] contain language that makes them applicable to the field. These regulations, published jointly by the US Departments of Health and Human Services (HHS) and Agriculture (USDA) in the Federal Register, draw upon authority established by Congress through the Antiterrorism and Effective Death Penalty Act of 1996, the USA PATRIOT (Uniting and Strengthening America by Providing Appropriate Tools Required to Intercept and Obstruct Terrorism) Act of 2001, and the Public Health Security and Bioterrorism Preparedness and Response Act of 2002. The primary goal of the Select Agent program is to regulate the possession, use, and transfer of a specified list of select agents and toxins that are considered potentially severe risks to human, animal or plant health, or to animal or plant products. However, the rules also apply to “Genetic Elements, Recombinant Nucleic Acids, and Recombinant Organisms derived from them”. This formulation is subsequently defined as: “Nucleic acids that can produce infectious forms of any of the select agent viruses listed in paragraph (b) of [§ 73.3]”, “Recombinant nucleic acids that encode for the functional form (s) of any of the toxins listed... if the nucleic acids: Can be expressed *in vivo* or *in vitro*, or are in a vector or recombinant host genome and can be expressed *in vivo* or *in vitro*”, and “select agents and toxins... that have been genetically modified.” Consequently, it would appear that the Select Agent Rules are not intended to regulate the use, possession, or transfer of synthetic genetic fragments that are unable, by themselves to produce a functional form of a listed agent or toxin (such a DNA oligos or synthetic genes.) However synthetic biology technology used to create functional infectious agent or toxins appears to fall under the Select Agent Rules.

Screening Guidance for Providers of Synthetic Double Stranded DNA

On October 13, 2010, HHS published *Screening Framework Guidance for Providers of Synthetic Double-Stranded DNA* in the Federal Register (Federal Register, Vol. 75, No. 197 2010). Following the guidance is voluntary, but it nonetheless provides insights into how the government could and might aim to limit risks to security in an age of synthetic biology. Under this guidance, providers of synthetic, double-stranded DNA accept two important responsibilities. First, they agree that they should know to whom they are distributing a product. Second, they should know whether the product they are synthesizing and distributing contains a “sequence of concern”. To achieve this, providers have agreed to conduct customer and sequence screening. The purpose of the customer screening is to establish the legitimacy of customers ordering synthetic double-stranded DNA sequences by verifying the identity and affiliation of customers and identifying any ‘red flags’ of which there is suspicion that the order could be used for inappropriate ends. Providers agree to check the customer against several lists of proscribed entities, such as the Department of Treasury Office of Foreign Asset Control list of Specifically Designated Nationals and Blocked Persons and the Department of Commerce Denied Persons List for domestic orders, and are required to follow the laws and regulations of US trade sanctions and export controls for international orders. The purpose of the sequence screening is to identify whether “sequences of concern” are ordered. Sequences of concerns are defined as those that code for the select agents and toxins identified by CDC and APHIS in the Select Agent Regulations. If the complete sequence or unique parts of the sequences are identified, providers must make sure that customers have a certificate of registration from CDC or APHIS for using select agents or toxins. For international orders, providers should also screen for items on the Commerce Control List to ensure that they are in compliance with the Export Administration Regulations (EAR). If either the customer or sequence screening cause concern, a follow-up screening must take place to verify the legitimacy of the customer and end-use of order. What a follow-up screening is to be composed of is less specific than for the two initial screening, but as far as possible, the identity, affiliation, and legitimacy of the customer must be obtained as well as the intended use of the ordered DNA. If the follow-up screening does not solve the concerns raised, the provider should contact the US Government, or more specifically either the FBI, the Select Agent Programs of CDC and APHIS or the Department of Commerce, for assistance and further action.



	Utilisation confinée à des fins de recherche, enseignement et développement dispositions générales	Utilisation confinée à des fins de recherche, enseignement et développement dispositions particulières relatives à la défense nationale	Utilisation confinée à des fins de production industrielle	Dissémination volontaire à des fins de mise sur le marché de produits de thérapie génique
Autorité compétente / interlocuteur des déposants du dossier pour autorisation.	MESR	Ministère de la Défense	Préfecture de département	Niveau européen : Selon le cadre réglementaire R (CE) 1394/2007, l'AC est la CE (le dossier est transmis à la CE par l'AC d'un EM) Dans la procédure d'autorisation européenne, certaines étapes se gèrent au niveau national. L'AC en France pour le R (CE) 1394/2007 est l'ANSM
Saisines réglementaires pour évaluation des risques	HCB	HCB	HCB	HCB
Textes réglementaires	Code Env : L. 515-13 et L.532-1 à 6 Code Env : D.531-1 à 3, D.532-1 à 3 Code Env : R.532-1 à 34 Code Santé : R. 1125-1 Arrêté du 16 juillet 2007 du ministère du travail, des relations sociales et de la solidarité Arrêté du 28 mars 2012 du MEDDE et du MESR UE : D. 2009/41	Code Env : L. 515-13 et L.532-1 à 6 Code Env : D.531-1 à 3, D.532-1 à 3 Code Env : R.532-1 à 34 Code Santé : R. 1125-1 Arrêté du 16 juillet 2007 du ministère du travail, des relations sociales et de la solidarité Arrêté du 28 mars 2012 du MEDDE et du MESR UE : D. 2009/41	Code Env : L.532-1 à 6 Code Env : R.515-32 à 36, R.532-1 à 34 UE : D. 2009/41	2003/63 UE : D. 2001/20

Dissémination volontaire à des fins de mise sur le marché de médicaments vétérinaires	Cas particulier recherche biomédicale sur produits de thérapie génique ou vaccins par transfert de gène Étape 1	Cas particulier recherche biomédicale et vétérinaire sur produits de thérapie génique ou vaccins par transfert de gène Étape 2	Cas particulier recherche vétérinaire sur médicaments vétérinaires
Niveau européen : EMA Demande d'autorisation évaluée par l'EMA Décision d'autorisation délivrée par la CE [Règlement (CE) 726/2004] Dans la procédure d'autorisation européenne, certaines étapes se gèrent au niveau national. L'AC en France pour le R (CE) 726/2004 est l'Anses.	MESR	ANSM	Anses ANMV Anses - Agence nationale du médicament vétérinaire
HCB	HCB	HCB - En parallèle, saisine du CPP (Comité de protection des personnes)	HCB
UE: D. 2001/82 UE: D. 2001/18	Loi 2008-595 du 25 juin 2008 article 13 Décret 2011-1177 du 23 septembre 2011 Décret 2012-384 Arrêté du 16 juillet 2007 du ministère du travail, des relations sociales et de la solidarité Loi 2011-2012 du 29 décembre 2011 modifiant l'Art. L.1123-12 Arrêté du 28 mars 2012 du MEDDTL et du MESR UE: D.2009/41 Code Env: R.533-21 Code Santé: R.1125-2 à 6 Décret n° 93-773 du 27 mars 1993 Arrêté du 27 décembre 1994	Code Env: R.533-21 Code Santé: R.1125-2 à 6 Décret 2011-1177 du 23 septembre 2011 article 6 Décret 2007-358 UE: D. 2001/20	Code Env: R.533-22 Code Santé: R.5141-7 Décret: 2007-358

Chapitre 5

SUR L'ÉTHIQUE ET LA GOUVERNANCE DE LA BIOLOGIE DE SYNTHÈSE²⁹

Il est désormais admis que l'éthique doit accompagner les recherches en vue d'innovations technologiques, bien avant l'arrivée des nouveautés sur le marché. L'intégration en amont des préoccupations éthiques et sociétales, déjà mise en œuvre dans le cas des nanotechnologies comme de la génomique, se justifie encore plus dans le cas de la biologie de synthèse dans la mesure où son projet est de reprogrammer et « redessiner » le vivant.

Aussi les programmes de recherche nationaux consacrent-ils dès le départ une part de leur budget à l'étude des impacts potentiels de ces recherches sur la société, le droit et l'économie³⁰, ainsi qu'aux questions d'éthique qu'elles sont susceptibles de soulever.

²⁹ Auteur: Bernadette Bensaude-Vincent, Université Paris 1-Panthéon-Sorbonne et IUF

³⁰ Le programme cadre européen EC-FP6 program a lancé le projet SYNBIOSAFE, dédié aux problèmes de sécurité, santé, de sûreté et d'éthique (Schmidt Markus, A. Kelle, A Ganguli-Mitra and H. de Vriend eds (2009) *Synthetic Biology. The Technoscience and its Societal Consequences*: Springer). Le septième programme cadre (EC-FP7) poursuit avec SYNTH-ETHICS (<http://www.synthethics.eu/documents/ReportSDWP2-final.pdf>) et ERASYNBIO tourné vers la coordination (http://cordis.europa.eu/search/index.cfm?fuseaction=proj.document&PJ_RCN=12495073). Aux États-Unis, le consortium SynBERC (Synthetic Biology Engineering Research Center) a regroupé des biologistes, des ingénieurs et des chercheurs en sciences humaines pour coopérer autour de son objectif 'making life easier to engineer' (<http://www.synberc.org/practices>).

De leur côté, les biologistes de synthèse semblent très soucieux d'innovation responsable. Dès le premier congrès SynBio 1.0 en 2004, ils ont intégré les questions éthiques et sociétales dans le programme.

Ce chapitre propose d'abord de préciser ce que l'on entend couramment par « innovation responsable » et de faire un rapide bilan de ce qui a été fait dans le domaine de la biologie de synthèse au cours des dernières années. Ensuite on tentera de dégager ce qui reste à faire en tenant compte de la grande diversité de la biologie de synthèse. En effet, sous cette étiquette et avec le double objectif d'avancement des connaissances et d'applications utiles à la société, sont rassemblés des agendas de recherche assez disparates. L'approche modulaire et constructiviste du programme de la Biobricks Foundation (MIT), l'approche génome minimal ou encore châssis sur lequel on greffe des fonctionnalités, la fabrication de protocellules et la xénobiologie qui vise à synthétiser des systèmes vivants orthogonaux aux vivants actuels. Ces divers programmes posent chacun des problèmes spécifiques.

UNE VOLONTÉ D'INNOVATION RESPONSABLE

« Innovation responsable » fait partie des slogans qu'affectionnent les politiques d'innovation. Ces mots-étendards (*buzzwords*) répétés à satiété n'ont pas de définition précise, mais leur sens s'éclaire par association à d'autres termes³¹. Le nuage sémantique de « Innovation responsable » enveloppe trois termes désignant des valeurs à respecter ou plutôt à cultiver et que l'on peut mémoriser par trois « P ». Il s'agit d'œuvrer au bénéfice de « People, Planet, Profit », d'après un rapport sur la recherche et innovation responsable rédigé pour la Commission européenne³². La résolution des chercheurs en biologie de synthèse rassemblés

³¹ voir le numéro de la revue *Alliage*, N°72, 2013, consacré aux *buzzwords* des technosciences

³² Sutcliffe, Hilary (2011) : A Report on Responsible Research & Innovation, p. 7. http://ec.europa.eu/research/science-society/document_library/pdf_06/rri-report-hilary-sutcliffe_en.pdf

lors du cinquième congrès international y fait écho : *“Work together so that the ramifications of such efforts are most likely to benefit all people and the planet”*³³. Bien que le terme de « profit » ne soit pas explicitement mentionné lors du sixième congrès, il est clair que dans la mesure où elle est tournée vers des applications commerciales, la biologie de synthèse est aussi au service du profit.

Si les trois préoccupations mémorisées par trois « P » semblent assez consensuelles, en revanche leur coexistence même fait problème. Comment concilier les intérêts des gens, de la planète et du profit ? Ne faudrait-il pas hiérarchiser, établir des priorités ? La traduction concrète de ces valeurs peut aussi susciter une foule de controverses. « *People* » désigne-t-il les humains en général, des peuples, des individus ? Le souci de la « planète » renvoie-t-il aux seules énergies renouvelables ou bien s'agit-il de l'écosphère et de sa durabilité ? Enfin, à qui vont les profits attendus de la biologie de synthèse ? Autant de questions à débattre. Mais qui est en position de définir ce qui bénéficie aux peuples, à la planète et au profit ?

Quelques grands corps politiques ont commissionné des rapports sur la biologie de synthèse. Aux États Unis, un rapport de la commission de bioéthique remis au Président en décembre 2010 formule dix-huit recommandations qui convergent pour une surveillance publique et politique des recherches et développements³⁴. Le comité d'éthique européen souligne la nécessité de développer un cadre de gouvernance éthique, juridique et sociétal, non pas seulement européen, mais mondial, pour s'assurer que les intérêts de la société sont respectés³⁵. En France, le rapport de l'Office parlementaire d'évaluation des choix scientifiques et techniques (OPECST) recommande de favoriser le développement national de la biologie de synthèse en maîtrisant les risques potentiels et en ouvrant un large débat public³⁶.

³³ <http://sb6.biobricks.org/about/>.

³⁴ Presidential Commission for the Study of Bioethical Issues, The Ethics of Synthetic Biology and Emerging Technologies www.bioethics.gov

³⁵ European Group on Ethics in Science & New technologies to the European Commission estime (EGE [The European Group on Ethics in Science & New technologies to the European Commission] 2011, *The Ethics of Synthetic Biology, opinion* N°25 <http://ec.europa.eu/>)

³⁶ OPECST (rapporteuse G. Fioraso) Les enjeux de la biologie de synthèse, 2012. <http://senat.fr/notice-rapport/2011/r11-378-1-notice.html>, déjà cité dans le chapitre précédent.

Côté public, force est de reconnaître qu'en dépit des effets d'annonces et des grandes promesses, la biologie de synthèse n'a pas vraiment agité les foules. Des articles et ouvrages consacrés à la biologie de synthèse ne suffisent pas à mettre le sujet dans l'arène publique³⁷. Un sondage Eurobaromètre, réalisé en janvier-février 2010 montrait que seulement 17 % de la population avait entendu parler de biologie de synthèse³⁸. Même si le pourcentage a pu légèrement augmenter avec la couverture médiatique de la fabrication d'un microorganisme symboliquement baptisé *Mycoplasma Laboratorium* par Craig Venter en mai 2010, on ne peut pas dire que l'opinion soit sensibilisée. C'est donc du côté des chercheurs et des industriels que l'on débat surtout des questions d'innovation responsable.

LA RESPONSABILITÉ COMME AUTORÉGULATION

Depuis une douzaine d'années, la communauté des chercheurs en biologie de synthèse affiche clairement une notion bien précise de responsabilité, qui rappelle celle des pionniers du génie génétique. Tout comme les 150 chercheurs réunis en 1975 en conférence à Asilomar (Californie) à l'appel de Paul Berg pour discuter d'un possible moratoire sur les expérimentations de génie génétique, les champions de la biologie de synthèse décident entre eux comment assumer leurs responsabilités. La série des congrès Synthetic Biology X.0 témoigne d'un souci d'autorégulation qui s'accompagne parfois d'un refus véhément de toute régulation juridique ou politique³⁹. La responsabilité telle que conçue par les biologistes de synthèse recouvre deux grandes questions : la propriété intellectuelle et les risques.

³⁷ Signalons deux ouvrages en langue française : B. Bensaude Vincent & D. Benoît Browaeys *Fabriquer la vie. Où va la biologie de synthèse*, Paris, Seuil, 2011. François Képès, *La biologie de synthèse, plus forte que la nature ?* Paris, éditions Le pommier, Les petites pommes du savoir N°134, 2012.

³⁸ European Union (2010) *Public Survey on Synthetic Biology*. http://ec.europa.eu/public_opinion/archives/ebs/ebs_341_en.pdf

³⁹ voir en particulier Rob Carlson. Il considère que les efforts de régulation sont toujours vains en prenant l'exemple des drogues. "where there is a market, there will always be attempts to supply it" (Carlson, *Biology is Technology*, 2010, p. 123).

Les questions de propriété intellectuelle sont centrales car la Biobricks Foundation qui a promu la biologie de synthèse comme discipline nouvelle, est favorable à un régime d'ouverture et de partage. Les brevets étant considérés comme obstacles à l'essor de la biologie de synthèse, les biobriques rassemblées dans le MIT Repository of Standard Biological Parts sont en accès libre. Ce choix politique visant à faciliter l'accès de tous (y compris des étudiants et des amateurs) s'accompagne de choix épistémologiques – standardisation, découplage, abstraction – ouvertement réductionnistes.

L'inventaire des risques

Le risque de piratage ou *biohacking*, lié au mouvement *Do-it-yourself* ou de biologie de garage fortement encouragé par quelques champions de l'accès libre, tient à la diffusion sur internet de recettes, par exemple dans le « Manuel du parfait *biohacker* »⁴⁰. Mais le risque est assez minime dans la mesure où ce mouvement libertaire n'affiche aucune volonté de nuire à autrui.

Plus préoccupant est le risque d'accidents non intentionnels, inattendus (biosécurité). Pour prévenir la dissémination de virus pathogènes, diverses mesures de confinement sont envisagées : outre le confinement physique dans des laboratoires de haute sécurité (P4), un confinement alimentaire par dépendance des organismes synthétiques à l'égard d'un aliment précis, introuvable à l'état naturel, un confinement évolutif en programmant des organismes mal équipés pour survivre dans la nature ; enfin le « coupe-feu génétique », c'est-à-dire la synthèse d'acides nucléiques dont l'alphabet et la grammaire diffèrent à ce point de ceux des vivants actuels qu'aucun croisement ne sera possible (xénobiologie).

Le risque de bioterrorisme (biosûreté), fortement signalé par quelques chercheurs⁴¹, est celui qui préoccupe le plus les industriels et les politiques. La fabrication de virus pathogènes (de la grippe espagnole, par exemple) a donné

⁴⁰ Mohr, S.C. *Primer for Synthetic Biology*, 2007, <http://openwetware.org>

⁴¹ en particulier Roger Brent, directeur du Center for Biological Futures à Seattle et Antoine Danchin (« Not every truth is good », *EMBO Reports*, vol.3, n°2, 2002)

l'alerte. Plusieurs voix ont dénoncé la publication d'articles sur « un génome qui est en lui-même une arme de destruction massive [...] ». Aucun scientifique responsable n'a publié les plans précis de la bombe atomique tandis que la révélation de la séquence du virus mortel est largement plus dangereuse⁴² ». Pour tenter de prévenir un tel risque, les moyens mis en œuvre sont limités. Stephen Maurer, avocat à Berkeley a proposé un code de bonne conduite pour les firmes productrices de séquences génétiques : ainsi plusieurs fournisseurs comme *Blue Heron Biotechnology* filtrent les commandes à l'aide d'un logiciel de détection de séquences d'agents classifiés dangereux.

En chaque cas, la conscience aiguë des risques et la volonté d'agir de manière responsable orientent les biologistes de synthèse vers la recherche de solutions techniques. Même les questions de justice sociale sont envisagées en termes de distribution des ressources de la biologie de synthèse. Quelques programmes de recherche comme celui de Jay Keasling sur la synthèse d'un vaccin contre la malaria financé par la fondation Bill et Melinda Gates sont censés « résoudre » le problème. La volonté de responsabilité occulte invariablement les dimensions éthique et politique des problèmes.

AU DELÀ DES RISQUES...

Pourtant la biologie de synthèse, comme les nanotechnologies, a suscité des coopérations avec les humanités. Des chercheurs en philosophie ou sciences sociales ont été « embarqués » dans les programmes de recherche⁴³. Le consortium américain SYNBERC constitué en 2006 a poussé l'effort d'intégration jusqu'à embaucher deux anthropologues, Paul Rabinow et Gaymon Bennett, chargés d'une section intitulée « *Human practices* » et généreusement financée. Rabinow et

⁴² Ray Kurzweil et Bill Joy, Recipe for destruction, *New York Times*, 17 octobre 2005

⁴³ En 2009 une équipe française au concours iGEM a été récompensée pour avoir intégré à leur projet une analyse éthique. Aguiton Sara (2010) SynthEthics. An Ethical and Sociological Analysis on Synthetic Biology. http://www.cso.edu/cv/equipe.asp?per_id=164

Bennett ont délibérément écarté l'approche d'éthique appliquée consistant à plaquer les doctrines éthiques sur un cas particulier pour calibrer leur approche sur les travaux en cours et « procéder à un examen critique des contributions de la biologie de synthèse du point de vue du bien-être humain »⁴⁴. Mais cette « expérimentation anthropologique » – selon l'expression de Rabinow et Bennet – s'est soldée par la démission des deux anthropologues⁴⁵. Leur travail ne répondait pas aux attentes des biologistes qui ont repris en mains le secteur rebaptisé « *Practices* ».

À l'évidence, il y a des divergences sur la notion de recherche responsable. Et ces divergences ne procèdent pas exclusivement du fameux fossé entre « les deux cultures » scientifique et humaniste. Les tentatives d'autorégulation de la communauté de biologie de synthèse sont régulièrement contrariées par des interventions de la société civile. Par exemple, le code de conduite élaboré au congrès SynBio 2.0 en 2006 est violemment critiqué par 35 organisations non-gouvernementales qui réclament l'ouverture d'un débat public⁴⁶. Le groupe canadien ETC Group publie dès 2007 un rapport alarmant appelant à un moratoire suivi de deux autres rapports en 2009 et 2010⁴⁷. En France, une série de débats organisée par l'association VivAgora en 2009 a réuni et fait débattre les parties prenantes durant six mois⁴⁸. Un dialogue plus abouti a été mené en Grande-Bretagne, en 2010⁴⁹.

⁴⁴ Rabinow et Bennett, Manifesto 2006. From bioethics to human practices in *Ars Synthetica: Designs for Human Practice*, 2009, <http://cnx.org/content/col10612/1.2/>, p. 79.

⁴⁵ Rabinow Paul, Bennet Gaymon (2012) *Designing Human Practices. An Experiment with Synthetic Biology*. Chicago: The University of Chicago Press.

⁴⁶ Aldhous Peter (2006) "Synthetic biologists reject controversial guidelines", *New Scientist*, May 23, <http://www.newscientist.com/article/dn9211>

⁴⁷ ETC Group (2007): *Extreme Genetic Engineering. An Introduction to Synthetic Biology*; http://www.etcgroup.org/en/materials/publications.html?pub_id=602. ETC Group (2008) *Commodifying Nature's Last Straw? Extreme Genetic Engineering and the Post-Petroleum Sugar Economy*, <http://www.etcgroup.org/en/node/703?> ETC Group (2010) *Synthia is alive... and breeding: Panacea or Pandora box?* <http://www.etcgroup.org/en/node/5142>

⁴⁸ <http://www.projets-citoyens.fr/node/864>

⁴⁹ Bhattachary D, Pascall J. Hunter A (2010) *Synthetic Biology Dialogue*, Report of the BBSRC and EPSRC <http://www.bbsrc.ac.uk/syntheticbiologydialogue/>.

Il comprend quarante-et-une interviews avec des parties prenantes (scientifiques, industriels, et associations de consommateurs...) et quatre workshops en différentes localités. Au total 160 personnes ont exprimé clairement leur opinion. Il en ressort qu'il n'y a aucun consensus (même au sein des groupes d'intérêts) et que le public n'est ni pour ni contre. Mais cinq questions sont posées aux chercheurs qui les invitent à réfléchir à leurs responsabilités : i) quel est votre but ? ; ii) pour quoi faire ? ; iii) qu'est-ce qu'on y gagne ? ; iv) qu'est-ce que ça fera d'autre ? ; v) comment savez vous que vous avez raison ? ⁵⁰. Ces questions, témoignant d'une inquiétude sur les motivations et finalités des chercheurs, les invitent ouvertement à réfléchir, à les faire hésiter.

En effet, la démarche volontariste de prévention des risques exprime certes une forme de prudence et procède des meilleures intentions. Mais les bonnes intentions ne sont pas une garantie de bonne action. L'éthique conséquentialiste, qui évalue les actions sur la base de leurs conséquences, suppose une attention aux contingences du futur. Au lieu de fonder les décisions sur la base de risques calculables, l'attitude conséquentialiste prend en compte ce qu'on ne sait pas, l'ignorance sans cesse générée par l'accroissement des connaissances. La responsabilité des conséquences doit être étendue au domaine des facteurs hors contrôle de l'agent moral, au hasard, au *moral luck* ⁵¹. C'est pourquoi les incertitudes afférentes aux manipulations du vivant, du fait de ses capacités évolutives, doivent être placées au cœur d'une démarche éthique. C'est d'ailleurs ce que souligne le rapport "BIOS" publié par le Centre for Synthetic Biology Innovation Imperial College, qui emprunte l'expression "*Technology of hubris*" à Sheila Jasanoff pour dénoncer la surestimation des évidences scientifiques et la sous-estimation des incertitudes en biologie de synthèse ⁵².

⁵⁰ Résumé du rapport http://www.bbsrc.ac.uk/web/FILES/Reviews/synbio_summary-report.pdf

⁵¹ Williams, B. (1981) *Moral Luck*, Cambridge: Cambridge University Press.

⁵² Zhang J.Y, Marris C. Rose N (2011) The transnational Governance of Synthetic Biology. Scientific Uncertainty, Cross-borderness and the 'Art of Governance', BiOS Working Paper, LSE. http://royalsociety.org/uploadedFiles/Royal_Society_Content/policy/publications/2011/4294977685.pdf p. 16. Jasanoff Sheila (2003) "Technologies of humility: Citizen participation in governing science", *Minerva*, 41: 223-244.

Questionner les valeurs implicites

De même que la prévention et la gestion des risques relèvent de la prudence plus que de l'éthique, de même l'autorégulation et une politique exclusivement fondées sur les évidences scientifiques ne peuvent instituer la gouvernance de la biologie de synthèse. La notion de gouvernance implique la prise en compte des attentes et aspirations de toutes les parties prenantes. Or celles-ci sont largement déterminées par des valeurs implicites en ce qui regarde le vivant, la nature en général et la nature humaine en particulier.

Un travail de « *valuation* »⁵³ – c'est-à-dire de repérage des valeurs implicites aux divers programmes de biologie de synthèse comme aux positions prises par d'éventuels opposants – est un préalable indispensable pour favoriser un jugement réflexif de part et d'autre et donc une véritable délibération.

Pour mener à bien cette entreprise d'appréciation, on pourrait certes s'inspirer des grandes doctrines éthiques. Mais, dans un État démocratique laïc, il paraît difficile de privilégier une doctrine morale ou religieuse pour fonder la gouvernance de la biologie. Une approche *bottom-up*, partant des objets produits par des biologistes de synthèse et s'interrogeant sur leur signification morale pour les différentes parties prenantes semble mieux adaptée.

En effet, le mode d'existence des organismes synthétiques, trop souvent pensés comme des êtres confinés à l'écart du monde commun dans lequel nous vivons, pose des questions sensibles car il touche à des valeurs largement partagées dans notre culture. *L'éthique et la gouvernance de la biologie de synthèse ne peuvent faire l'impasse sur les grands partages qui ont un caractère normatif ou régulateur dans les cultures occidentales comme le partage entre le naturel et l'artificiel, le vivant et le non-vivant, l'humain et le non-humain.*

Les objets produits en biologie de synthèse sont-ils naturels ou artificiels ? À l'évidence ils sont hybrides de nature et d'artifice, mais c'est aussi le cas de tous les

⁵³ Notion empruntée à John Dewey (1939) *Theory of Valuation*, Chicago, The University of Chicago Press. Voir aussi, *Experience and Nature*, New York, Dover Publications, 1958, chapter 10, « Existence, value and criticism ». Bensaude-Vincent Bernadette, Nurock Vanessa (2010) « éthique des nanotechnologies » in Emmanuel Hirsch ed., *Traité de bioéthique*, vol. 1, Paris érès, pp. 355-369.

objets techniques, comme le soulignait déjà Descartes⁵⁴. On peut très bien valoriser les objets de la biologie de synthèse dans une perspective cartésienne : on remplace le mot 'nature' trop chargé de connotations morales et religieuses, par celui de 'matière'⁵⁵. En manipulant une matière passive et malléable, on contribue à la fois à l'avancement des connaissances et à l'utilité sociale. La synthèse est, en effet, promue comme un outil pour comprendre le fonctionnement du vivant : d'où l'attachement des biologistes de synthèse à la citation de Richard Feynman « *What I cannot create I do not understand*⁵⁶ ». Et elle est orientée vers des produits utiles à la santé, à la société, à la remédiation comme à la protection de la planète... La biologie de synthèse peut donc être éthiquement justifiée comme la poursuite du grand projet cartésien de « nous rendre comme maître et possesseur de la nature⁵⁷ », qui place l'homme au dessus des autres espèces vivantes. Cette perspective anthropocentrique justifie d'ailleurs la réponse du Vatican à l'annonce de la bactérie synthétique de Craig Venter⁵⁸. Cette réponse peut se résumer à : « Tant qu'on ne crée pas la vie de *novo* et que l'on manipule le vivant pour le bien de l'humanité, il n'y a rien à redire ».

DÉPASSER L'ANTHROPOCENTRISME

L'anthropocentrisme qui semble dominer aujourd'hui parmi les acteurs de la biologie de synthèse peut cependant être contesté dans le cadre d'une éthique biocentrique, où la vie est objet de respect. Quel que soit leur degré d'artificialité,

⁵⁴ « Toutes les choses qui sont artificielles sont avec cela naturelles » (Descartes, *Les Principes de la philosophie*, IVe partie, § 203 (Adam et Tannery, t. IX, p. 321)

⁵⁵ « Sachez donc, premièrement, que par la Nature je n'entends point ici quelque Déesse, ou quelque autre sorte de puissance imaginaire ; mais que je me sers de ce mot pour désigner la Matière même... », Descartes, *Le Monde* (publication posthume, 1664), chapitre VII (« Des lois de la nature de ce nouveau monde »), ed. Adam et Tannery, t. XI, p. 36

⁵⁶ Sur son tableau noir à Caltech, ainsi que d'autres pensées au moment de sa mort.

⁵⁷ René Descartes *Discours de la méthode* tome I, sixième partie.

⁵⁸ Voir <http://www.cathoweb.org/s-informer/actualites/premiere-cellule-au-genome.html> (n'est plus en ligne).

les créatures de la biologie de synthèse sont des êtres vivants, même s'ils ne sont pas le produit d'une histoire contingente. L'*oncomouse*, la souris transgénique programmée pour faire des cancers est, comme le souligne Donna Haraway, un être qui souffre et meurt pour que nous vivions, et comme tel appelle solidarité⁵⁹. Mais la biologie de synthèse fabrique des microorganismes – levures, bactéries – qui suscitent difficilement la compassion. Microbes et bactéries ont même été considérés comme des ennemis à combattre au xx^e siècle. Toutefois la biologie de synthèse peut s'associer à une mutation radicale de cette vision guerrière au profit d'une valorisation des bactéries comme partenaires ou commensaux⁶⁰. Dans une perspective biocentrique, on peut envisager les microorganismes non plus comme des moyens au service de nos fins technologiques, mais comme des êtres vivants (peut-être même sociaux) avec qui on noue des relations de partenariat, voire de symbiose. Alors on leur doit soin et assistance, comme à des animaux domestiques.

Une deuxième contestation de l'anthropocentrisme peut venir d'une éthique proprement technique. Bien que la nature demeure une valeur centrale dans notre culture, les objets techniques ont aussi une dignité culturelle en tant qu'expressions de la créativité humaine. Le philosophe Gilbert Simondon insiste sur la valorisation des objets techniques en vertu de leur *technicalité et non de leur utilité*. Loin d'être la matérialisation d'un projet abstrait par assemblage de parties fonctionnelles indépendantes, la technicalité s'inscrit dans un processus de concrétisation qui constitue l'objet technique en individu et implique le milieu associé dans le schème opératoire. Or ces individus techniques concrets exigent un engagement que Simondon compare à celui des humanistes contre l'esclavage⁶¹. Il ne s'agit pas de libérer l'homme des machines, mais de libérer

⁵⁹ Haraway Donna (1997) *Modest Witness@Second Millennium.FemaleMan Meets OncoMouse: Feminism and Technoscience*, New York.

⁶⁰ Warren Ruder C. *et al.* (2011) "Synthetic biology moving into the Clinic", *Science*, 333, 2 September, 1248-1252.

⁶¹ « La prise de conscience des modes d'existence des objets techniques doit être effectuée par la pensée philosophique, qui se trouve avoir à remplir dans cette œuvre un devoir analogue à celui qu'elle a joué pour l'abolition de l'esclavage et l'affirmation de la valeur de la personne humaine ». Simondon Gilbert (1989) *Du mode d'existence des objets techniques*, Paris, Aubier, first ed 1958, p. 9.

les machines asservies à l'impératif du rendement⁶². Dans quelle mesure les objets créés en biologie de synthèse pourraient-ils être valorisés pour leur technicalité ? À l'heure actuelle, ils sont plutôt valorisés en tant qu'exécutants d'un programme implémenté par le concepteur. Les prouesses techniques pour surmonter les obstacles dus aux interactions avec le milieu cellulaire sont passées sous silence⁶³. Des objets standards et abstraits comme les biobriques ou des xéno-ADN n'ont aucune individualité, aucun ancrage dans un milieu. Ce sont des êtres atopiques, des créatures hors-sol, hors-lieu, plus que des objets techniques. Ainsi, les deux perspectives biocentrique et technocentrique se rejoignent dans une commune réprobation de la vision réductionniste du vivant comme machine reprogrammable où de l'objet technique comme esclave à notre service.

Conclusion

On voit que le souci très louable de recherche et innovation responsable n'épuise pas le champ des questions éthiques. Les efforts d'ouverture, de transparence, de limitation de la propriété intellectuelle comme les efforts d'anticipation et de prévention des risques potentiels liés à la biologie de synthèse encouragent souvent les espoirs d'autorégulation de la communauté scientifique qui tendent à exclure les interventions des pouvoirs politiques aussi bien que les opinions issues de la société civile.

⁶² Gilbert Simondon, *L'Individuation à la lumière des notions de forme et d'information*, Paris, Milon, 2005, p. 527. Voir Vincent Bonfems « Esclaves et machines, même combat ! L'aliénation selon Marx et Simondon », *Cahiers Simondon*, n°5 (sous la direction de JH Barthélémy, Paris, l'Harmattan, 2013).

⁶³ Par exemple en présentant sa bactérie synthétique dans les médias comme le premier être vivant dont les parents sont un ordinateur, Craig Venter passe sous silence toutes les prouesses techniques nécessaires pour faire entrer un génome dans une cellule et reprogrammer la cellule : « This is the first self-replicating cell we've had on the planet whose parent is a computer » (*USA Today* 5/20/2010 citant *TED* 5/2010).

Si l'on considère que l'innovation technique n'est pas seulement l'affaire des experts et qu'elle doit se fonder sur des valeurs partagées, il est essentiel d'analyser les valeurs attachées à chaque objet issu de la biologie de synthèse par les diverses parties prenantes et d'en débattre pour orienter son développement. Cette façon de procéder au cas par cas est la mieux à même de permettre à la fois d'éviter la rigidité des positions de principe et d'engager l'ensemble des acteurs dans une démarche réflexive sur les enjeux et les finalités des innovations envisagées.

Conclusions et recommandations

LES BIOTECHNOLOGIES BLANCHES ONT-ELLES UN AVENIR EN FRANCE ?

Comme nous avons tenté de le montrer, le développement de l'industrie de la fermentation au cours de ses soixante-dix ans d'existence – on dit aujourd'hui « biotechnologies blanches » – a reposé sur trois éléments indépendants :

- des connaissances microbiologiques et, depuis une trentaine d'années, moléculaires concernant les microorganismes vivants utilisés comme « principes actifs » dans le procédé de fermentation proprement dit. Ces connaissances se sont considérablement développées au cours de la période et ont permis de mettre au point des techniques biologiques successives qui, combinées aux avancées des sciences de l'information, aboutissent actuellement à ce qu'il est convenu de nommer la « biologie de synthèse ». Ce nouvel ensemble technologique permet de modéliser sur l'ordinateur des chemins métaboliques, naturels ou entièrement nouveaux qui, une fois réalisés pratiquement dans le microorganisme, peuvent conduire à la production de molécules organiques en quantité suffisante pour présenter un intérêt sur le plan économique. À terme, il est très vraisemblable que les applications de ces principes conduiront à faciliter le travail des biologistes et donc à raccourcir l'étape de création des microorganismes mis en œuvre dans les procédés industriels ;

- un cadre réglementaire permettant à l'industriel de produire dans des conditions de sécurité suffisantes pour ses employés, son environnement et ses clients, sans limiter son accès aux innovations apportées par les avancées de la technologie ;
- un environnement industriel favorable, et en particulier des groupes chimiques intéressés par les avantages de ce type particulier de procédés. Cela est particulièrement vrai aujourd'hui dans le cadre plus général du « verdissement » de la chimie organique, où l'industrie de la fermentation peut apporter des avantages concurrentiels par rapport à la chimie traditionnelle en jouant sur les économies d'énergie apportées par ces procédés biologiques par rapport à ceux utilisés en chimie organique classique ainsi que sur l'emploi de matières premières renouvelables d'origine végétale plutôt que de matières premières d'origine fossile.

Sur le premier élément, les auditions menées par le groupe de travail ainsi que la connaissance interne de ses membres permet de conclure que la France, sans être leader, reste un acteur actif dans le développement mondial de ces technologies.

Les équipes de recherche fondamentale française dans le domaine émergent de la biologie de synthèse, sans être nombreuses, sont d'excellent niveau et parfois pionnières. Elles constituent aussi un vivier pour former les chercheurs qui travailleront dans les startup ou, plus rarement, dans les groupes industriels qui cherchent à entrer dans ce secteur.

Une dizaine de startup françaises ont été créées au cours des dix dernières années, souvent à l'initiative de scientifiques visionnaires associés à des managers pariant sur l'innovation. Elles ont réussi à recruter des équipes performantes maîtrisant la microbiologie, les techniques moléculaires de maniement du génome et les principes de la biologie de synthèse. Les programmes qu'elles ont lancés sont longs et laborieux. Les problèmes liés au changement d'échelle, du laboratoire au pilote puis à l'usine, demeurent parfois à résoudre, notamment au niveau de l'adaptation des souches microbiennes utilisées.

L'État a souvent aidé au développement de ces petites sociétés, en finançant en totalité ou en partie leurs programmes de recherche à travers Oséo, le FUI ou les programmes des Investissements d'avenir de l'Ademe et

de l'ANR. Les Investissements d'avenir ont également permis la création du démonstrateur préindustriel Toulouse White Biotechnology Center, géré par l'INRA, qui, avec le support de l'ANR, permet la réalisation de « preuves de concept » dans des partenariats public-privé qui utilisent des plates-formes techniques mutualisées.

Ces startup sont maintenant confrontées à la montée en puissance de leurs programmes, qui atteignent l'étape du développement pré-industriel. Il leur faut se familiariser avec ou introduire des technologies issues du génie chimique pour fermenter, puis purifier, les produits accumulés dans le milieu, première étape d'importance dans l'industrialisation du procédé. Plusieurs centres publics de recherche, comme l'IFPen, les INSA, les universités de technologies ou d'autres encore ont une veille sur ces développements et forment des ingénieurs dans ces domaines. Quelques Centres techniques, comme le CVG à Amiens ou des entreprises spécialisées comme ARD en Champagne-Ardenne sont des centres de compétence reconnus au niveau international.

On notera enfin le rôle fédérateur mené par le pôle de compétitivité Industrie & Agro-Ressources (IAR) qui anime un réseau très important d'entreprises dont plusieurs sont directement concernées par les biotechnologies blanches et qui, par le biais de sa promotion du concept de Bioraffinerie⁶⁴ joue un rôle important dans celle de l'industrie de la fermentation, tant en France qu'à Bruxelles.

Il n'en reste pas moins que chaque production étant un cas d'espèce, elle nécessite à chaque fois des mises au point longues et laborieuses. Le milieu des biotechnologies blanches fourmille d'exemples au niveau international où des difficultés de mise au point industrielle se sont révélées beaucoup plus longues à surmonter et donc plus coûteuses qu'anticipé initialement. La biotechnologie industrielle a toujours reposé et reposera encore longtemps sur un savoir-faire industriel spécifique et rare, même si les sciences biologiques d'amont et le génie chimique apportent des schémas de pensée utiles et structurants.

⁶⁴ European Biorefinery joint strategy road map for 2020 www.star-colibri.eu; Les Entretiens de Chantilly, Novembre 2011 : Les alternatives végétales aux ressources fossiles : concept et enjeu territorial.

Le second élément, tout aussi important, est plus sujet à caution. Dès les premiers programmes industriels de la fin des années 80, l'utilisation de microorganismes vivants « génétiquement modifiés » a rapidement conduit à une certaine suspicion de la part de nombre d'ONG dans les pays concernés. Sur ce sujet comme sur beaucoup d'autres, l'Europe s'est voulue exemplaire et a monté un corpus réglementaire complexe et assez incertain. Sa transposition dans le système réglementaire français ne l'a pas simplifié et il est par exemple encore nécessaire, pour chaque génération de souche microbienne améliorée, utilisée pour le même procédé de production, de représenter le dossier au comité technique du Haut conseil des biotechnologies. Sans nier l'importance sociétale des questions soulevées par les associations et les ONG qui défendent une vision très écologique de l'environnement, il faut reconnaître que nombre d'entre elles n'ont qu'une connaissance imparfaite des procédés et développements industriels, ce qui en fait des interlocuteurs difficiles. Les affrontements qui ont eu lieu au sein de l'Observatoire de la biologie de synthèse créé récemment par les Pouvoirs publics comme centre de discussion de ces questions sociétales en sont la dernière expression malheureuse.

À un niveau plus large, le débat actuel mené à Bruxelles depuis deux ans dans le cadre de la production des biocarburants sur l'équilibre à respecter entre l'utilisation des cultures à des fins alimentaires ou pour servir de matière première à la production énergétique ou industrielle, fragilise la position des industriels.

Force est de reconnaître que les procédures réglementaires sur ces sujets sociétaux, en place dans d'autres pays comme les États-Unis, et qui sont présentées dans ce rapport, apparaissent pour beaucoup d'industriels comme plus amènes pour développer ce type d'industrie.

Le troisième élément est, lui, déterminant. Comme le rapide historique dressé au début du rapport a tenté de le montrer, la France a été précurseur dans les biotechnologies industrielles. Toutefois la disparition du leader de l'industrie chimique Rhône-Poulenc, le recentrage de Sanofi sur ses activités pharmaceutiques et la sortie complète de Lafarge au cours des années 1990 ont marqué un tournant dans le développement de ce type d'activités qui sont désormais conduites par des sociétés de taille moyenne, de type familial ou coopératif dont les activités de recherche et les possibilités d'investissement dans ces secteurs jugés

relativement risqués restent limitées. Elles s'y sont toutefois impliquées, dans des programmes de recherche ou de démonstration à l'échelle pré-industrielle, mais qui jusqu'à présent n'ont pas encore débouché sur des investissements industriels de production en France⁶⁵.

À ces raisons d'ordre capitalistique se sont ajoutées dans les dernières années la crise mondiale et la baisse de compétitivité de l'industrie biotechnologique européenne et française face aux pays d'Asie du sud-est et de la Chine en particulier. La Chine développe de façon très agressive la biotechnologie industrielle avec des moyens financiers et humains très importants. Le concept industriel que les sociétés chinoises appliquent est celui de la Bioraffinerie, poussé aux limites, les sites industriels intégrant la production d'énergie à partir du charbon et celle du glucose à partir du maïs grain, le tout sur des sites de très grande taille qui magnifient d'autant les effets d'échelle.

Même les États-Unis, dont l'effort de recherche et de développement dans ce domaine reste majeur, et qui jouissent, depuis quelques années, de conditions d'environnement industriel pourtant favorables *a priori* à l'investissement, peinent à transformer l'essai et restent dans un certain attentisme dans le domaine des biotechnologies blanches au niveau industriel. Quelques startup américaines ont même préféré investir au Brésil où, du fait de l'abondante production de sucre, la matière première est largement disponible. De plus, dans ce même pays, le gisement de bagasse constitue un avantage compétitif important, à la fois en tant que source d'énergie et de sucres fermentescibles de deuxième génération, ne présentant pas de compétition avec un usage alimentaire.

L'ensemble ne crée donc pas un climat favorable à ce type de développement. Il ne faut alors pas s'étonner que les grandes multinationales comme Total ou BASF préfèrent chercher ailleurs des conditions plus favorables.

Au vu de ce constat, l'implication à terme pour les startup nationales n'est que moyennement positive, en tout cas sur le plan de la création de valeur et d'emploi sur le territoire français.

⁶⁵ *A contrario*, nous avons noté l'investissement fait par le groupe Roquette dans son usine italienne, en partenariat avec le chimiste hollandais DSM, la prise de participation du groupe Sofiprotéol dans une filiale de Fermentalg et celle du groupe Téréos dans la startup Déinove.

En effet, si même, de par leur créativité, elles arrivent à mettre au point des procédés industriellement viables et correspondant à un marché de niche suffisamment rémunérateur, il reste peu vraisemblable que dans les conditions actuelles, et pour les raisons décrites plus haut, elles puissent arriver à mobiliser suffisamment de capitaux pour un investissement industriel qui semblera toujours risqué, compte tenu des conditions de l'environnement européen. Elles auront alors le choix, soit d'investir en Asie ou au Brésil, un exercice très difficile à réussir dans un milieu mal connu, soit à se vendre à des chimistes maintenant très internationaux qui choisiront alors les sites économiquement les plus favorables pour investir.

Le rapport de la Commission innovation présidé par Anne Lauvergeon⁶⁶, ainsi que les 34 propositions de relance par l'innovation des filières industrielles du ministère du redressement productif⁶⁷ font tous les deux références à la chimie verte et citent la biologie de synthèse comme un axe à privilégier dans les choix d'avenir du pays. Ce choix est en cohérence avec la feuille de route du MESR (2011)⁶⁸ et le rapport interministériel (2013)⁶⁹. Nous espérons que le présent rapport permettra d'enrichir la réflexion sur ce sujet et d'apporter des solutions constructives aux questions d'environnement industriel qui sous-tendent toute réussite dans ce domaine des biotechnologies blanches.

⁶⁶ <http://www.elysee.fr/assets/pdf/Rapport-de-la-commission-Innovation-2030.pdf>

⁶⁷ <http://www.dgcis.gouv.fr/politique-et-enjeux/innovation-4-axes-40-mesures>

⁶⁸ <http://www.enseignementsup-recherche.gouv.fr/cid58770/biologie-de-synthese-de-veloppement-potentialites-et-defis.html>

⁶⁹ <http://www.ladocumentationfrancaise.fr/var/storage/rapports-publiques/144000176/0000.pdf>

COMPOSITION DU GROUPE DE TRAVAIL

Membres de l'Académie :

Bernadette Bensaude-Vincent
Sylvain Blanquet
Danièle Blondel
Pierre-Etienne Bost
Alain Michel Boudet
Pierre Bourlioux
Bernard Chevassus-au-Louis
Michel Combarrous
Patrick Couvreur
Bernard Daugeras
Michel Delaage
Patrice Desmarest
Pierre Feillet
Michel Frybourg
Pierre Galle

Antoine Gaset
François Gros
Marion Guillou
François Képès
Bernard Le Buanec
Jean Lunel
Pierre Monsan, initiateur
et animateur du GT
Gérard Pascal
Alain Pavé
Alain Pompidou
Marc Roquette
Daniel Thomas
Gérard Toulouse
Gilles Trystram

Membre extérieur à l'Académie :

Paul Colonna

PERSONNALITÉS AUDITIONNÉES PAR LE GROUPE DE TRAVAIL

- 11/01/2011: François KÉPÉS (CNRS, Genopole Évry)
08/02/2011: Thierry MARCEL (Roquette Frères, directeur
R&D biotechnologie)
Paul COLONNA (INRA, délégué scientifique développement durable)
08/03/2011: Denis POMPON (CNRS, LISBP Toulouse)
Alfonso JARAMILLO (CNRS, Genopole Évry))
12/04/2011: Daniel THOMAS (Pôle IAR, université de Compiègne)
Vincent SCHACHTER (TOTAL Gaz & énergies nouvelles)
14/06/2011: Marc DELCOURT (Global BioEnergies)
Philippe SOUCAILLE (Metabolic Explorer)
15/09/2011: Gilles AMSALLEM (BioMéthodes)
10/01/2012: Jean-Loup FAULON (université d'Évry)
Patrick RÜDELSHEIM (Perseus)

*Suite aux travaux du groupe de travail,
l'Académie des technologies a émis l'avis suivant :*

BIOLOGIE DE SYNTHÈSE ET BIOTECHNOLOGIES INDUSTRIELLES (BLANCHES)

Par le présent avis, l'Académie des technologies apporte son éclairage sur les questions que pose l'émergence de la biologie de synthèse (BS) dans le domaine des applications industrielles des biotechnologies. Il a pour objet de situer les potentialités de ce qui marque le passage historique de la biologie de l'état de science naturaliste à celui de technologie, dans le contexte des enjeux actuels industriels et sociétaux, et de proposer des mesures d'accompagnement pour favoriser l'émergence d'une bioéconomie basée sur la connaissance.

La biologie de synthèse

La BS est définie par l'OCDE comme « l'ingénierie de composants et de systèmes biologiques qui n'existent pas dans la nature et la réingénierie d'éléments biologiques existants ; elle porte sur la conception intentionnelle de systèmes biologiques artificiels ». Elle se situe dans la continuité du génie biochimique. À l'origine de son développement récent, on trouve l'extraordinaire progrès des technologies de lecture et d'écriture de l'information génétique, associé au développement des puissances de calcul disponibles, des possibilités d'analyse des données issues du séquençage des génomes, de la modélisation du vivant, de caractérisation des flux métaboliques cellulaires, de robotisation et de miniaturisation. Il en est résulté à la fois une approche systémique de la

biologie cellulaire et des capacités totalement nouvelles d'ingénierie moléculaire des protéines, notamment des catalyseurs enzymatiques par combinaison d'approches rationnelles et combinatoire, et d'ingénierie métabolique permettant l'introduction de nouvelles voies métaboliques et la délétion génétique de voies parasites dans un microorganisme pour produire des composés d'intérêt industriel.

Plusieurs équipes de recherche poursuivent le rêve de la construction d'un microorganisme possédant un génome « minimal », lui permettant de demeurer viable et de se reproduire, dans lequel il serait possible d'intégrer à volonté telle ou telle voie métabolique aboutissant à l'obtention d'une véritable « usine cellulaire ». Il faut ici souligner que l'on est loin de comprendre l'ensemble du fonctionnement des bactéries les plus simples, que dans la « bactérie synthétique » annoncée par Craig Venter en 2010 seul le chromosome était synthétique (ce qui n'en constitue pas moins un remarquable exploit scientifique) et que la machinerie cellulaire indispensable préexistait. Le vivant synthétique n'est donc pas pour demain. On peut également envisager de nouveaux modes de codage de l'information génétique, ainsi que la construction de protéines constituées d'acides aminés non naturels, ce qui illustre les nouvelles possibilités d'intervention sur le vivant non calquées sur la nature. La BS autorise ainsi potentiellement des ruptures et l'obtention de nouveaux produits non accessibles par les voies du génie génétique conventionnel.

Ces nouvelles possibilités de modification du vivant soulèvent bien entendu des questions d'éthique, de sécurité et de propriété intellectuelle, qui doivent être prises en compte le plus tôt possible. La récente mise en place de l'Observatoire de la biologie de synthèse au Conservatoire national des arts et métiers, doit permettre de répondre aux questions posées au plan sociétal.

LES BIOTECHNOLOGIES INDUSTRIELLES (BLANCHES)

Les outils biologiques sont utilisés depuis la nuit des temps pour l'obtention de produits d'intérêt à partir de matières premières renouvelables, d'origine animale ou végétale, tout d'abord de manière empirique (boissons, aliments...) ; plus récemment, ces outils ont été utilisés de façon rationnelle

pour la production de molécules industrielles (antibiotiques, acides organiques et aminés, enzymes, biocarburants, intermédiaires pour la chimie, édulcorants). S'est ainsi développée au niveau mondial une industrie de la fermentation et de l'utilisation d'enzymes à partir des années 1950, dont la production de plusieurs produits se chiffre en millions de tonnes par an. Cette industrie demeure bien représentée en France, malgré des cessions capitalistiques effectuées depuis vingt ans. Aujourd'hui, les possibilités de modification du vivant qu'offre la BS décuplent les opportunités d'application des outils biologiques dans les secteurs de la chimie, des matériaux et de l'énergie, dans un contexte doublement prégnant de pénurie annoncée de carbone d'origine fossile et de nécessité de limiter au maximum l'empreinte carbone des procédés industriels pour préserver l'environnement. À l'échéance de 2020, 15 % (en volume) des produits de l'industrie chimique pourraient être biosourcés. On observe déjà des succès industriels : synthons pour la chimie des polymères (acide lactique, 1,3-propanediol, acide succinique, isobutanol...).

Un des principaux défis à relever, à côté de l'intensification indispensable des procédés permettant d'atteindre des rendements, productivités et concentrations finales de produit aussi élevées que possible, est de pouvoir disposer de sources de carbone renouvelable fiables, viables économiquement et n'entrant pas en concurrence avec les usages alimentaires. La valorisation des biomasses lignocellulosiques (co-produits agricoles, forêt, cultures dédiées...) dans un concept intégré de « bioraffineries » est indispensable.

RECOMMANDATIONS

Si la France a connu dans le passé des développements industriels importants dans ce domaine, il faut constater que le niveau d'investissement public et privé demeure limité, malgré quelques initiatives isolées. La mise en œuvre de la biologie de synthèse, approche avant tout technologique, est une étape que notre pays doit franchir, comme l'ont déjà fait les États-Unis et d'autres pays européens. Pour favoriser l'essor de cette nouvelle bioéconomie, basée sur la valorisation du carbone renouvelable, les mesures suivantes sont souhaitables :

- ▶ soutien aux actions de recherche permettant l'accès à la biodiversité microbienne pour identifier de nouveaux gènes et de nouvelles voies métaboliques : métagénomique fonctionnelle, métabolomique, bioinformatique, modélisation... Il est important de souligner que la microbiologie traditionnelle présente encore et toujours un intérêt majeur ;
- ▶ soutien aux centres de séquençage des génomes et de traitement informatique des données obtenues ;
- ▶ création de formations d'ingénieurs intégrant de manière volontariste et originale la biologie de synthèse à la biotechnologie, la modélisation, la chimie et au génie des procédés ;
- ▶ création de masses critiques de R & D : les pôles d'Évry (iSSB, CNRS ; Génoscope, CEA) et de Toulouse (Toulouse White Biotechnology) sont en cours de structuration grâce, notamment, aux Investissements d'avenir ;
- ▶ soutien au développement de procédés industriels (démonstrateurs) par des incitations fiscales ;
- ▶ mise en place d'une réflexion éthique et de développement durable pour tous les nouveaux procédés de biotechnologie industrielle.

Glossaire

- **Acide érucique** : acide 13-dococénoïque, acide gras monoinsaturé présent notamment dans l'huile de colza et de moutarde, utilisé pour produire des émoullents, des tensio-actifs et divers produits chimiques. Sa teneur est limitée dans le colza « 00 » en raison de sa toxicité pour les animaux.
- **Acide myristique** : acide tétradécanoïque, acide gras saturé à 14 atomes de carbone, présent dans l'huile de coco et l'huile de palme.
- **Aldolisation** : réaction de formation de liaisons carbone-carbone impliquant l'addition nucléophile d'un énoate sur un aldéhyde pour former un aldol (β -hydroxy-cétone). Cette liaison est présente dans de nombreuses molécules naturelles et médicamenteuses.
- **Atopique** : une personne atopique est atteinte d'atopie, une prédisposition à développer plus facilement que la population « normale » des allergies courantes.
- **BBI** : « Bio Based Industries »
- **BDO** : butane-1,4-diol, produit par Genomatica à l'aide d'une souche d'*E. coli* modifiée génétiquement.
- **Biobriques** : éléments de base dont l'assemblage permet de construire des dispositifs servant le métabolisme ou la régulation biologique. Une biobrique sera typiquement un segment d'ADN codant par exemple une protéine ou un élément régulant sa production.

- ▶ **Biotechnologies blanches** : regroupent les applications des systèmes biologiques (enzymes, microorganismes...) dans les domaines industriels de la chimie (des commodités à la chimie fine), des matériaux (biopolymères, bioplastiques...) et de l'énergie (biocarburants).
- ▶ **Biotechnologies rouges** : regroupent les applications des systèmes biologiques (enzymes, microorganismes...) dans le domaine de la santé (médicaments, anticorps monoclonaux, enzymes, diagnostics...).
- ▶ **Biotechnologies vertes** : regroupent les applications des systèmes biologiques dans les domaines de l'agronomie et de l'agriculture, notamment les transgénèses végétales.
- ▶ **BS** : biologie de synthèse (ou biologie synthétique).
- ▶ **Butanediol** : voir BDO.
- ▶ **Cleantechs** : domaine d'investissement regroupant les sociétés développant des technologies éco-compatibles et durables.
- ▶ **Cosmides** : vecteurs artificiels permettant le clonage de grands fragments d'ADN (35 à 60 kb), constitués d'un plasmide hybride contenant la séquence cos du phage lambda. Ils sont utilisés pour construire des banques génomiques et métagénomiques.
- ▶ **Énantiosélectivité** : reconnaissance spécifique d'un seul des deux énantiomères (molécules symétriques, image l'une de l'autre dans un miroir, comme les deux mains) d'un mélange racémique. Les enzymes sont très souvent des catalyseurs énantiosélectifs.
- ▶ **ETP** : « équivalent temps plein ».
- ▶ **Fluxomique** : mesure des vitesses réelles des réactions métaboliques dans un système biologique. Il s'agit, par exemple, de déterminer le devenir métabolique du carbone dans une cellule, un tissu ou un organisme, à l'aide de marquage isotopique notamment.
- ▶ **Fosmides** : vecteurs artificiels semblables aux cosmides (voir cosmides), mais basés sur le plasmide-F bactérien, qui intervient dans la biosynthèse du pilus sexuel. Ils permettent de construire des banques génomiques ou métagénomiques plus stables que les cosmides, du fait du nombre limité de copies présentes dans la cellule hôte.
- ▶ **In silico** : s'applique à une recherche ou un essai effectué à l'aide de moyens informatiques.

- ▶ **Isobutanol** : méthyl-2-propane-1-ol, isomère du n-butanol qui peut être produit par fermentation de glucides, notamment par les clostridies.
- ▶ **Isotopes froids** : isotopes non radioactifs (^{13}C , D, ^{15}N) utilisés pour le marquage des molécules. Il est ainsi possible de suivre leur devenir métabolique par spectrométrie de masse.
- ▶ **Métabolomique** : étude de l'ensemble des molécules (métabolome) présentes dans une cellule à un instant donné.
- ▶ **Métagénomique** : étude du contenu génétique d'un ensemble complexe (sol, intestin, océan, air...), basé sur l'extraction de l'ADN présent, son découpage en grands fragments (~40 kb), qui sont ensuite clonés, exprimés et séquencés. La métagénomique fonctionnelle repose sur la mise en évidence d'une fonctionnalité (cf. hydrolyse d'un polysaccharide) en préalable au séquençage.
- ▶ **Mévalonate** : Le mévalonate ou acide mévalonique est un composé organique clé en biochimie. C'est le précurseur de la voie métabolique qui produit les terpènes et les stéroïdes.
- ▶ **Mutagenèse** : introduction de mutation(s) dans une séquence d'acide nucléique.
- ▶ **Mutagenèse au hasard** : ou mutagenèse aléatoire, qui consiste à introduire des mutations de manière totalement aléatoire dans un fragment d'ADN, par des méthodes chimiques, irradiation ou, plus couramment, par copie infidèle (*Error prone PCR*) à l'aide d'une ADN polymérase. On obtient ainsi une banque de mutants qui sera criblée par des méthodes à haut débit.
- ▶ **Mutagenèse dirigée** : consiste à introduire des mutations précises et volontaires dans un fragment d'ADN, qui se traduiront par le remplacement d'un acide aminé par un autre dans la séquence protéique correspondante.
- ▶ **Mutagenèse massive** : consiste à introduire des mutations précises et volontaires dans un fragment d'ADN permettant de remplacer, dans la séquence protéique correspondante, un acide aminé par les dix-neuf autres acides aminés. Cette méthode permet d'élucider le rôle joué par un acide aminé dans une séquence protéique et, surtout, dans la structure tridimensionnelle correspondante.
- ▶ **N-butanol** : butan-1-ol ou normal-butanol ou alcool n-butylique. Il est produit par fermentation des glucides, notamment par les clostridies.
- ▶ **Organosolv** : procédé papetier permettant de séparer la lignine et les hémicelluloses de la cellulose à l'aide d'un solvant organique à partir d'une biomasse lignocellulosique. Il permet d'obtenir une lignine de bonne qualité, contrairement au procédé Kraft. Le solvant est récupéré par distillation.

- ▶ **PDO** : propan-1,3-diol ou triméthylène glycol. Il est utilisé comme « bloc de construction » dans la production de polymères.
- ▶ **Sécurité (dans le cadre de ce rapport)** : La biosécurité (*biosafety*) vise à prévenir les risques d'accidents non intentionnels ou des conséquences inattendues.
- ▶ **Sûreté (dans le cadre de ce rapport)** : La biosûreté vise à prévenir l'utilisation intentionnelle à des fins belliqueuses ou terroristes de données mises à disposition sur internet ou de séquences pathogènes.
- ▶ **Xéno-ADN** : Le xéno-ADN ou acide xénonucléique (AXN) est un polymère génétique non-naturel, basé sur des structures simples de type nucléique qui peut porter des informations génétiques comme le font l'ADN et l'ARN.
- ▶ **Zymotechnologie** : (du grec zymê : ferment) toute technique utilisant des processus de fermentation.

PUBLICATIONS DE L'ACADÉMIE

Les travaux de l'Académie des technologies sont l'objet de publications réparties en quatre collections¹:

- Les rapports de l'Académie : ce sont des textes rédigés par un groupe de l'Académie dans le cadre du programme décidé par l'Académie et suivi par le Comité des travaux. Ces textes sont soumis au Comité de la qualité, votés par l'Assemblée, puis rendus publics. On trouve dans la même collection les avis de l'Académie, également votés en Assemblée, et dont le conseil académique a décidé de la publication sous forme d'ouvrage papier. Cette collection est sous couverture bleue.

¹ - Les ouvrages de l'Académie des technologies publiés entre 2008 et 2012 peuvent être commandés aux Éditions Le Manuscrit (<http://www.manuscrit.com>). La plupart existent tant sous forme matérielle que sous forme électronique.

- Les titres publiés à partir de janvier 2013 sont disponibles en librairie et sous forme de ebook payant sur le site de EDP sciences (<http://www.edition-sciences.com>). À échéance de six mois ils sont téléchargeables directement et gratuitement sur le site de l'Académie.

- Les publications plus anciennes n'ont pas fait l'objet d'une diffusion commerciale, elles sont consultables et téléchargeables sur le site public de l'Académie www.academie-technologies.fr, dans la rubrique « Publications ». De plus, l'Académie dispose encore pour certaines d'entre elles d'exemplaires imprimés.

- Les communications à l'Académie sont rédigées par un ou plusieurs Académiciens. Elles sont soumises au Comité de la qualité et débattues en Assemblée. Non soumises à son vote elles n'engagent pas l'Académie. Elles sont rendues publiques comme telles, sur décision du Conseil académique. Cette collection est publiée sous couverture rouge.
- Les « Dix questions à ... et dix questions sur ... » : un auteur spécialiste d'un sujet est sélectionné par le Comité des travaux et propose dix à quinze pages au maximum, sous forme de réponses à dix questions qu'il a élaborées lui-même ou après discussion avec un journaliste de ses connaissances ou des collègues (Dix questions à ...). Ce type de document peut aussi être rédigé sur un thème défini par l'Académie par un académicien ou un groupe d'académiciens (Dix questions sur ...). Dans les deux cas ces textes sont écrits de manière à être accessibles à un public non-spécialisé. Cette collection est publiée sous une couverture verte.
- Les grandes aventures technologiques françaises : témoignages d'un membre de l'Académie ayant contribué à l'histoire industrielle. Cette collection est publiée sous couverture jaune.
- Par ailleurs, concernant les Avis, l'Académie des technologies est amenée, comme cela est spécifié dans ses missions, à remettre des Avis suite à la saisine d'une collectivité publique ou par auto saisine en réaction à l'actualité. Lorsqu'un avis ne fait pas l'objet d'une publication matérielle, il est, après accord de l'organisme demandeur, mis en ligne sur le site public de l'Académie.
- Enfin, l'Académie participe aussi à des co-études avec ses partenaires, notamment les Académies des sciences, de médecine, d'agriculture, de pharmacie ...

Tous les documents émis par l'Académie des technologies depuis sa création sont répertoriés sur le site www.academie-technologies.fr. La plupart sont peuvent être consultés sur ce site et ils sont pour beaucoup téléchargeables.

Dans la liste ci-dessous, les documents édités sous forme d'ouvrage imprimé commercialisé sont signalés par une astérisque. Les publications les plus récentes sont signalées sur le site des éditions. Toutes les publications existent aussi sous forme électronique au format pdf et pour les plus récentes au format ebook.

AVIS DE L'ACADÉMIE

1. Brevetabilité des inventions mises en œuvre par ordinateurs : avis au Premier ministre – juin 2001
2. Note complémentaire au premier avis transmis au Premier ministre – juin 2003
3. Quelles méthodologies doit-on mettre en œuvre pour définir les grandes orientations de la recherche française et comment, à partir de cette approche, donner plus de lisibilité à la politique engagée ? – décembre 2003
4. Les indicateurs pertinents permettant le suivi des flux de jeunes scientifiques et ingénieurs français vers d'autres pays, notamment les États-Unis – décembre 2003
5. Recenser les paramètres susceptibles de constituer une grille d'analyse commune à toutes les questions concernant l'énergie – décembre 2003
6. Commentaires sur le Livre Blanc sur les énergies – janvier 2004
7. Premières remarques à propos de la réflexion et de la concertation sur l'avenir de la recherche lancée par le ministère de la Recherche – mars 2004
8. Le système français de recherche et d'innovation (SFRI). Vue d'ensemble du système français de recherche et d'innovation – juin 2004
 - Annexe 1 – La gouvernance du système de recherche
 - Annexe 2 – Causes structurelles du déficit d'innovation technologique. Constat, analyse et proposition.
9. L'enseignement des technologies de l'école primaire aux lycées – septembre 2004
10. L'évaluation de la recherche – mars 2007
11. L'enseignement supérieur – juillet 2007
12. La structuration du CNRS – novembre 2008
13. La réforme du recrutement et de la formation des enseignants des lycées professionnels – Recommandation de l'Académie des technologies – avril 2009
14. La stratégie nationale de recherche et l'innovation (SNRI) – octobre 2009
15. Les crédits carbone – novembre 2009
16. Réduire l'exposition aux ondes des antennes-relais n'est pas justifié scientifiquement : mise au point de l'Académie nationale de médecine, de l'Académie des sciences et de l'Académie des technologies – décembre 2009
17. Les biotechnologies demain – juillet 2010

18. Les bons usages du Principe de précaution – octobre 2010
19. La validation de l'Acquis de l'expérience (VAE) – janvier 2012
20. Mise en œuvre de la directive des quotas pour la période 2013–2020 – mars 2011
21. Le devenir des IUT – mai 2011
22. Le financement des start-up de biotechnologies pharmaceutiques – septembre 2011
23. Recherche et innovation : Quelles politiques pour les régions ? – juillet 2012
24. La biologie de synthèse et les biotechnologies industrielles (blanches) – octobre 2012
25. Les produits chimiques dans notre environnement quotidien – octobre 2012
26. L'introduction de la technologie au lycée dans les filières d'enseignement général – décembre 2012
27. Évaluation de la recherche technologique publique – février 2013
28. L'usage de la langue anglaise dans l'enseignement supérieur – mai 2013

RAPPORTS DE L'ACADÉMIE

1. Analyse des cycles de vie – octobre 2002
2. Le gaz naturel – octobre 2002
3. Les nanotechnologies : enjeux et conditions de réussite d'un projet national de recherche – décembre 2002
4. Les progrès technologiques au sein des industries alimentaires – Impact sur la qualité des aliments / La filière lait – mai 2003
5. *Métrologie du futur – mai 2004
6. *Interaction Homme-Machine – octobre 2004
7. *Enquête sur les frontières de la simulation numérique – juin 2005
8. Progrès technologiques au sein des industries alimentaires – la filière laitière, rapport en commun avec l'Académie d'agriculture de France – 2006
9. *Le patient, les technologies et la médecine ambulatoire – avril 2008
10. *Le transport de marchandises – janvier 2009 (version anglaise au numéro 15)
11. *Efficacité énergétique dans l'habitat et les bâtiments – avril 2009 (version anglaise au numéro 17)
12. *L'enseignement professionnel – décembre 2010

13. *Vecteurs d'énergie – décembre 2011 (version anglaise au numéro 16)
14. *Le véhicule du futur – septembre 2012 (publication juin 2013)
15. *Freight systems (version anglaise du rapport 10 le transport de marchandises) – novembre 2012
16. *Energy vectors – novembre 2012 (version anglaise du numéro 13)
17. *Energy Efficiency in Buildings and Housing – novembre 2012 (version anglaise du numéro 11)
18. *Les grands systèmes socio-techniques / Large Socio-Technical Systems – ouvrage bilingue, juillet 2013
19. * Première contribution de l'Académie des technologies au débat national sur l'énergie / First contribution of the national academy of technologies of France to the national debate on the Future of energies supply – ouvrage bilingue, juillet 2013
20. Renaissance de l'industrie : construire des écosystèmes compétitifs fondés sur la confiance et favorisant l'innovation - juillet 2014
21. Le Méthane : d'où vient-il et quel est son impact sur le climat ? – novembre 2014

COMMUNICATIONS À L'ACADÉMIE

1. *Prospective sur l'énergie au xxi^e siècle, synthèse de la Commission énergie et environnement – avril 2004, MàJ décembre 2004
2. Rapports sectoriels dans le cadre de la Commission énergie et environnement et changement climatique :
3. Les émissions humaines – août 2003
 - Économies d'énergie dans l'habitat – août 2003
 - Le changement climatique et la lutte contre l'effet de serre – août 2003
 - Le cycle du carbone – août 2003
 - Charbon, quel avenir ? – décembre 2003
 - Gaz naturel – décembre 2003
 - Facteur 4 sur les émissions de CO₂ – mars 2005
 - Les filières nucléaires aujourd'hui et demain – mars 2005
 - Énergie hydraulique et énergie éolienne – novembre 2005
 - La séquestration du CO₂ – décembre 2005
 - Que penser de l'épuisement des réserves pétrolières et de l'évolution du prix du brut ? – mars 2007
4. Pour une politique audacieuse de recherche, développement et d'innovation de la France – juillet 2004

5. *Les TIC : un enjeu économique et sociétal pour la France – juillet 2005
6. *Perspectives de l'énergie solaire en France – juillet 2008
7. *Des relations entre entreprise et recherche extérieure – octobre 2008
8. *Prospective sur l'énergie au ^{xxi}^e siècle, synthèse de la Commission énergie et environnement, version française et anglaise, réactualisation – octobre 2008
9. *L'énergie hydro-électrique et l'énergie éolienne – janvier 2009
10. *Les Biocarburants – février 2010
11. *PME, technologies et développement – mars 2010.
12. *Biotechnologies et environnement – avril 2010
13. *Des bons usages du Principe de précaution – février 2011
14. L'exploration des réserves françaises d'hydrocarbures de roche mère (gaz et huile de schiste) – mai 2011
15. *Les ruptures technologiques et l'innovation – février 2012
16. *Risques liés aux nanoparticules manufacturées – février 2012
17. *Alimentation, innovation et consommateurs – juin 2012
18. Vers une technologie de la conscience – juin 2012
19. Les produits chimiques au quotidien – septembre 2012
20. Profiter des ruptures technologiques pour gagner en compétitivité et en capacité d'innovation – novembre 2012 (à paraître)
21. Dynamiser l'innovation par la recherche et la technologie – novembre 2012
22. La technologie, école d'intelligence innovante. Pour une introduction au lycée dans les filières de l'enseignement général – octobre 2012 (à paraître)
23. Le rôle de la technologie et de la pratique dans l'enseignement de l'informatique, mai 2014
24. Renaissance de l'industrie : recueil d'analyses spécifiques – septembre 2014
25. Réflexions sur la robotique militaire – mars 2015

DIX QUESTIONS POSÉES À...

1. *Les déchets nucléaires – 10 questions posées à Robert Guillaumont – décembre 2004
2. *L'avenir du charbon – 10 questions posées à Gilbert Ruelle – janvier 2005
3. *L'hydrogène – 10 questions posées à Jean Dhers – janvier 2005
4. *Relations entre la technologie, la croissance et l'emploi – 10 questions

à Jacques Lesourne – mars 2007

5. *Stockage de l'énergie électrique – 10 questions posées à Jean Dhers – décembre 2007
6. *L'éolien, une énergie du ^{xxi}^e siècle – 10 questions posées à Gilbert Ruelle – octobre 2008
7. *La robotique – 10 questions posées à Philippe Coiffet, version franco-anglaise – septembre 2009
8. *L'intelligence artificielle – 10 questions posées à Gérard Sabah – septembre 2009
9. *La validation des acquis de l'expérience – 10 questions posées à Bernard Decomps – juillet 2012
10. Les OGM – 10 questions posées à Bernard Le Buanec – avril 2014

GRANDES AVENTURES TECHNOLOGIQUES

1. *Le Rilsan – par Pierre Castillon – octobre 2006
2. *Un siècle d'énergie nucléaire – par Michel Hug – novembre 2009

HORS COLLECTION

1. Actes de la journée en mémoire de Pierre Faure et Jacques-Louis Lions, membres fondateurs de l'Académie des technologies, sur les thèmes de l'informatique et de l'automatique – 9 avril 2002 avec le concours du CNES
2. Actes de la séance sur "Les technologies spatiales aujourd'hui et demain" en hommage à Hubert Curien, membre fondateur de l'Académie des technologies – 15 septembre 2005
3. Libérer Prométhée – mai 2011

CO-ÉTUDES

1. Progrès technologiques au sein des industries alimentaires – La filière laitière. Rapport en commun avec l'Académie d'agriculture de France – mai 2004
2. Influence de l'évolution des technologies de production et de transformation des grains et des graines sur la qualité des aliments. Rapport commun avec l'Académie d'agriculture de France – février 2006

3. *Longévité de l'information numérique – Jean-Charles Hourcade, Franck Laloë et Erich Spitz. Rapport commun avec l'Académie des sciences – mars 2010, EDP Sciences
4. *Créativité et Innovation dans les territoires – Michel Godet, Jean-Michel Charpin, Yves Farge et François Guinot. Rapport commun du Conseil d'analyse économique, de la Datar et de l'Académie des technologies – août 2010 à la Documentation française
5. *Libérer l'innovation dans les territoires. Synthèse du Rapport commun du Conseil d'analyse économique, de la Datar et de l'Académie des technologies. Créativité et Innovation dans les territoires Édition de poche – septembre 2010 – réédition novembre 2010 à la Documentation française
6. *La Métallurgie, science et ingénierie – André Pineau et Yves Quéré. Rapport commun avec l'Académie des sciences (RST) – décembre 2010, EDP Sciences.
7. Les cahiers de la ville décarbonée en liaison avec le pôle de compétitivité Advancity
8. Le brevet, outil de l'innovation et de la valorisation – Son devenir dans une économie mondialisée – Actes du colloque organisé conjointement avec l'Académie des sciences le 5 juillet 2012 éditions Tec & doc – Lavoisier
9. Quel avenir pour les biocarburants aéronautiques ?, rapport commun avec l'Académie de l'Air et de l'Espace (à paraître en avril 2015)