Bordeaux INP
ENSTBB

PLANNING & RÉSUMÉS

SCHEDULE & ABSTRACTS

SOUTENANCES
PFE de 3ème ANNÉE
Année 2017-1018

DEFENCES
3rd YEAR INTERNSHIPS
Year 2017-2018

17-18 septembre 2018

September 17-18, 2018

42 INGENIEURS ENSTBB
PROMOTION 2018
(22ème promotion)

42 ENSTBB ENGINEERS
CLASS OF 2018
(22nd class)

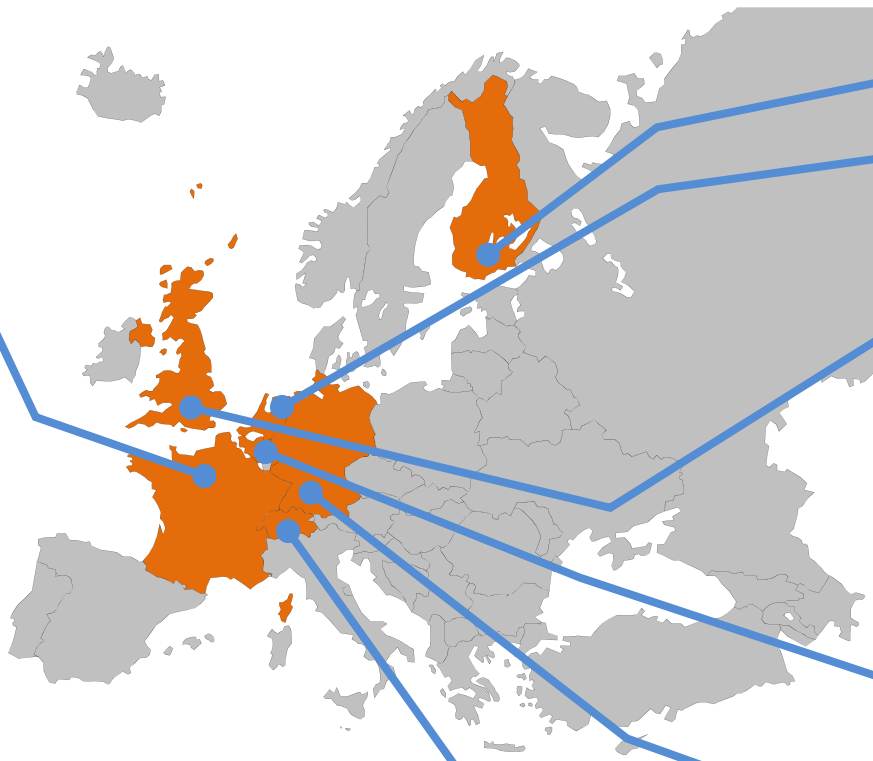
ENSTBB ● Bordeaux INP ● 146, rue Léo Saignat ● 33076 Bordeaux cedex ● France
Té : +33(0)5 56 84 69 92 ● E-mail : enstbb.stages@bordeaux-inp.fr
www.enstbb.fr

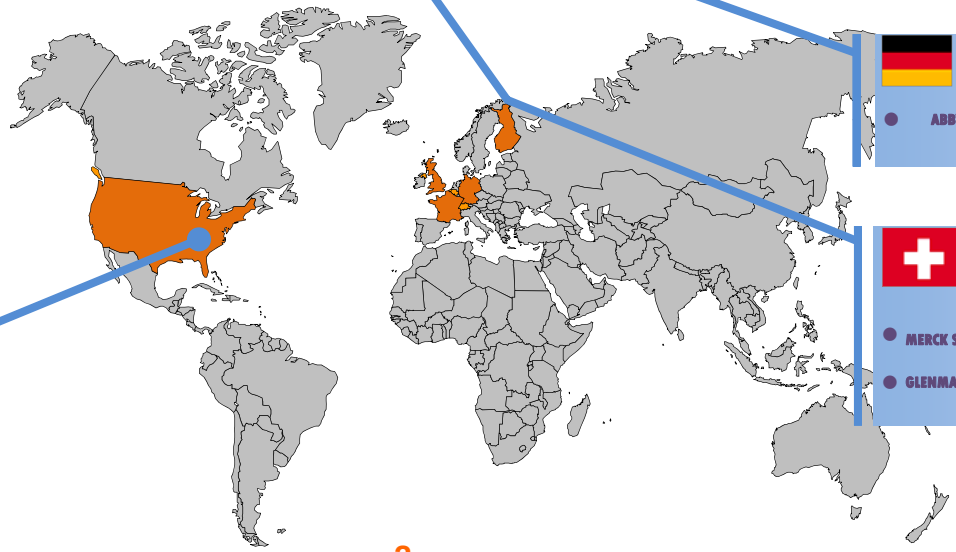
FRANCE / *FRANCE*

- **GIVAUDAN FRANCE** (ARGENTEUIL)
- **GENFIT** (LOOS)
- **HTS BIO** (GEMENOS)
- **MANE & FILS SA** (LE BAR SUR LOUP)
- **MERCK BIODEVELOPMENT** (MARTILLAC)
- **IPSEN BU BIOTECH** (BOULOGNE_BILLANCOURT)
- **OLMIX SA** (BREHAN)
- **DEINOVE** (GRABELS)
- **TRIFYL** (LABESSIERE-CANDEIL)
- **TOTAL** (LACQ)
- **LFB** (LES ULIS)
- **FERMENTALG** (LIBOURNE)
- **GENZYME** (LYON)
- **TECHNOLOGIE SERVIER** (ORLEANS)
- **BIOTRAL RESEARCH** (RENNES)
- **GLAXOSMITHKLINE** (RUEIL-MALMAISON)
- **SIEMENS INDUSTRY SOFTWARE SAS** (TOULOUSE)
- **LABORATOIRE D'INGENERIE DES SYSTEMES** (TOULOUSE)
- **SATT AQUITAINE- CELL3** (BORDEAUX)
- **SANOFI WINTHROP INDUSTRIE** (GENTILLY)
- **SANOFI (VITRY SUR SEINE)**
- **SANOFI PASTEUR** (MARCY L'ETOILE)

ETATS-UNIS / *UNITED STATES*

- **ARBOR VITA CORPORATION** (FREMONT)
- **CHROMATAN** (PHILALDEPHIA)





SUEDE / *SWEDEN*

- **CELLINK** (GOTHENBURG)

PAYS-BAS / *NEITHERLAND*

- **GALAPAGOS** (LEIDEN)

ROYAUME-UNI / *UNITED KINGDOM*

- **ARTIOS PHARMA LTD** (CAMBRIDGE)
- **KYMAB LTD** (CAMBRIDGE)

BELGIQUE / *BELGIUM*

- **CONFO THERAPEUTICS** (BRUXELLES)
- **OUAT** (BRUXELLES)
- **UCB PHARMA** (BRAINE L'ALLEUD)

ALLEMAGNE / *GERMANY*

- **ABBVIE Deutschland GmbH** (LUDWIGSCHAFFEN AM RHEIN)

SUISSE / *SWITZERLAND*

- **MERCK SA** (FENIL-CORSIER)
- **GLENMARK PHARMACEUTICALS SA** (LA-CHAUX-DE-FONDS)

ENSTBB 2018 - Soutenances des projets de fin d'étude / *End-of-studies projects presentations*

		Sous-jury A *Review panel A*	Confidentielle (C) Non Confidentielle (NC)	Présence tuteur	Sous-jury B *Review panel B*	Confidentielle (C) Non Confidentielle (NC)	Présence tuteur	Sous-jury C *Review panel C*	Confidentielle (C) Non Confidentielle (NC)	Présence tuteur
		Salle C2a / Room C2a		*Soutenance*	*Salle C2b / Room C2b*		*Soutenance*	*Salle B21 / Room B21*		*Soutenance*
Lundi 17 septembre ***Monday, September 17th***	9h30-10h15	JOUVE Pauline *UCB PHARMA*	C		DJEMAL Leila *MERCK SA*	C		BOURSIER Marie *Artios Pharma Limited*	C	
	10h15-11h00	PIEDNOIR Antoine *GIVAUDAN France - M. GUILLERET*	NC		TOUSSAINT Solène *SANOFI WINTHROP INDUS. - Mme CHAYOUX*	NC		GUILAIN Audrey *SANOFI - M. NEVEU*	C	
	Pause café									
	11h15-12h00	THIRY Astrid *Technologie SERVIER - Mme BECQ*	NC		CAMPANA Nadia *SANOFI - Mme MASPERO*	C		FAURE Hugo *CONFO THERAPEUTICS - M. FONTAINE*	C	
	12h00-12h45	PARSY Aurélien *TOTAL SA - Mme SAMBUSITI, M. BALDONI-ANDREY*	C		ZOLLER Guislaine *GlaxoSmithKline*	C		GRANAROLO Emilie *KYMAB Ltd - M. NORMAN*	C	
	Déjeuner									
	14h00-14h45	ROBERT Antoine *Sanofi Genzyme - Mme CATHALA*	C		EYMARD Julie *UCB PHARMA - Mme BORROSSI*	C		TARDY Marie *GALAPAGOS - M. STALLEN*	NC	
	14h45-15h30	GRINDES Lucie *SANOFI-PASTEUR - Mme MONNET, Mme IZAC*	C		LE LAMER Marie *IPSEN BU Biotech*	NC		GAY Nathan *MERCK BIODEVELOPMENT - Mme THIZON*	NC	
	Pause café									
	15h45-16h30	VERGNES Jean-Baptiste *LISBP - M. GUIRAUD*	NC		POINSIGNON-BLANCARD Marie *SIEMENS INDUSTRY SOFTWARE - M. LASSALLE*	C		PLETENKA Justine *TreeFrog Therapeutics - M. FEYEUX*	C	
	16h30-17h15	NOGUER Marie *TRIFYL*	NC		MAVEL-BAUDU Clémence *ARBOR VITA Corporation*	C		COMBES Lauriane *MANE & FILS SA*	NC	

Classique	*Visio-conférence*
CP ENSTBB	Soutenances et questions en anglais
CBI	
CP GEM	
Echange académique	

Exposés de 15 minutes suivis de 20 minutes de questions du jury.
Oral presentations (15 minutes) followed by questions of the board of examiners (20 minutes).
Toutes les séances de questions du jury seront réalisées à huis-clos.
The questions session are performed only in the presence of the board of examiners and the supervisor (if present).

ENSTBB 2018 - Soutenances des projets de fin d'étude / *End-of-studies projects presentations*

		Sous-jury D *Review panel D*	Confidentielle (C) Non Confidentielle (NC)	Présence tuteur	Sous-jury E *Review panel E*	Confidentielle (C) Non Confidentielle (NC)	Présence tuteur	Sous-jury F *Review panel F*	Confidentielle (C) Non Confidentielle (NC)	Présence tuteur
		Salle B21 / Room B21		*Soutenance*	*Salle B22a / Room B22a*		*Soutenance*	*Amphithéâtre / Amphitheater*		*Soutenance*
Mardi 18 septembre ***Tuesday, September 18th***	9h30-10h15	EDJAGA Kevin *MERCK BIODEVELOPMENT - Mme SIHABOUT*	NC		LEBRUN Charlotte *WINTHROP M. SIDAWY*	NC		MILCENT Adrien *OLMIX SA*	C	
	10h15-11h00	SAVIGNY Madeleine *CELLINK*	NC		ARNAUD Léa *DEINOVE - M. BRIAND*	C		FOURMENT Laura *MERCK BIODEVELOPMENT - M. THUET*	C	
	Pause café									
	11h15-12h00	GLISSE Natacha *GLENMARK PHARMACEUTICALS SA - Mme CROSET, Mme HALL*	C		MORCILLO Marine *BIOTRIAL RESEARCH - Mme GUERMONT*	NC		BERTONI Mathilde *Fermentalg - M. GODART*	C	
	12h00-12h45	DUA Binu *MERCK BIODEVELOPMENT - Mme FAILLY*	C		BINDELS Maurène *LFB - Mme RIMBAUD*	C		FAVAREL Camille *MERCK BIODEVELOPMENT - Mme FISCH*	NC	
	Déjeuner									
	14h00-14h45	LAUGA Léa *MERCK BIODEVELOPMENT - M. THUET*	C		FONTAINE Marie *OUAT ! - M. EGLOFF*	NC		BALAGUE Anais *ChromaTan*	C	
	14h45-15h30	BOINET Anne-Laure *AbbVie Deutschland GmbH & Co*	C		IMOLA Romain *SARTORIUS STEDIM BIOTECH - M. GENTILE*	NC		FAVRAUD Thomas *GLENMARK PHARMACEUTICALS SA - M. METTE*	C	

Classique	*Visio-conférence*
CP ENSTBB	Soutenances et questions en anglais
CBI	
CP GEM	
Echange académique	

Exposés de 15 minutes suivis de 20 minutes de questions du jury.

Oral presentations (15 minutes) followed by questions of the board of examiners (20 minutes).

Toutes les séances de questions du jury seront réalisées à huis-clos.

The questions session are performed only in the presence of the board of examiners and the supervisor (if present).

Léa ARNAUD

3A-CPRO

DEINOVE

GRABELS ● France

04/09/2017⟶28/09/2018

Maître(s) de stage / Supervisor(s) : ***Alexandre BRIAND***

Elaboration d'un bioprocédé pour la purification d'un pigment bactérien.

Les pigments sont des molécules colorantes naturellement produits, et qui peuvent être également produites par synthèse chimique. Ils sont utilisés dans de nombreux domaines, comme l'industrie agro-alimentaire, la cosmétique, les textiles, les peintures, entre autres. Le principal enjeu de mon alternance est d'élaborer le procédé et de trouver la formulation finale pour une utilisation particulière d'un pigment dans un domaine.
Le projet développé par DEINOVE est de mettre en place un bioprocédé afin de produire un pigment via un microorganisme pour l'incorporer dans une formulation finale exploitable pour le client. Le but de mon alternance a été dans un premier temps de caractériser le pigment produit naturellement par une bactérie issue du souchier de DEINOVE. Dans un deuxième temps, des tests d'extraction et des recherches complémentaires ont été réalisés pour trouver le bon compromis de solubilisation, Le pigment étant uniquement soluble dans le diméthylsulfoxyde et insoluble dans des solvants usuels. Des nouvelles méthodes d'extraction ont été explorées avec de nouveaux solvants ou combinaisons de solvants. Une étude de stabilité du pigment a également été mise en place pour juger la bonne tenue du pigment dans la formulation finale.

Development of a bioprocess to purify bacterial pigment.

Pigments are molecules with coloring properties that can be extracted from natural sources, but also produced through chemical synthesis. They have many applications in the food, cosmetic, textile, and paint industries, among others. The main objective of my internship is to develop a process and find a final formulation for a specific use in a particular field.
DEINOVE's project is to develop a bioprocess in order to obtain a pigment produced by a microorganism, to be incorporated in a final formulation useful for the customer. The first goal of my internship was to characterize the pigment naturally produced by a bacterium from DEINOVE's strains. The second goal was to test different extraction conditions in order to find the right solubilization compromise. The pigment is soluble in dimethyl sulfoxide and insoluble in commonly used solvents. Investigation of new extraction methods had been made by testing different solvents or mixtures of solvents. A stability study of the pigment was also performed.

Anais BALAGUE

3A-classique

ChromaTan

PHILADELPHIA ● Etats-Unis

05/03/2018⟶07/09/2018

Maître(s) de stage / Supervisor(s) : ***Dmitriy FEDORENKO***

Downstream Processing Co-op.

Dans le monde de l'industrie pharmaceutique, les procédés du type downstream et la purification de protéines comme les anticorps représentent certains des éléments les plus essentiels et l'innovation dans ces domaines est l'enjeu de nombreux organismes. L'entreprise ChromaTan, basée aux État-Unis, développe depuis plusieurs années un système de purification de protéines très innovant. Le système de Chromatographie Tangentielle à Contre-Courant (CCTC system), créé et breveté en 2009, est un système de purification sans colonne où la résine, les molécules et les solvants sont en circulation dans un système de tubes et de membranes fermé qui remplace toutes les étapes d'une chromatographie classique. Un tel système permet de purifier en continu un grand volume de produit d'intérêt à basse pression et en utilisant un maximum de matériaux à usage unique. Ce type de procédé, applicable à tous les types de chromatographie, permet entre autre des coûts amoindris sur de larges volumes et une forte augmentation de la productivité de la purification. Plusieurs organismes tels que Merck, la FDA (Food and Drug Administration) ou la NIH (National Institutes of Health) sont entrés en contact avec ChromaTan pour développer un procédé personnalisé avec le système CCTC afin de purifier des anticorps. L'étude présentée dans ce rapport portera sur le développement d'un procédé de purification avec le système CCTC en collaboration avec un de ces organismes.

Downstream Processing Co-op.

In the sector of the pharmaceutical industry, downstream processes and purification of proteins like antibodies represent some of the most essential elements and the innovation in these domains is the goal of many organisms. The company ChromaTan, based in the United States, has developed for many years a new innovative purification system. The Countercurrent Tangential Chromatography system (CCTC), created and patented in 2009, is a column-free purification system where the resin, the molecules and the buffers are in circulation in a closed flow path that replace all the steps of a classical chromatography. This system can perform a continuous purification of a large volume of product, at low pressure, using mainly Single-Use components. This type of process, which can be applied to all types of chromatography, allows for example lower costs on large volumes of products and increased process productivity. Different organisms like Merck, the FDA (Food and Drug Administration) or the NIH (National Institutes of Health) contacted ChromaTan to develop customized processes with the CCTC system in order to purify antibodies. The study presented in this report will present the development of a purification process on the CCTC system in collaboration with one of these organisms.

Mathilde BERTONI

3A-CPRO

Fermentalg

LIBOURNE ● France

01/10/2017→30/09/2018

Maître(s) de stage / Supervisor(s) : ***François GODART***

Mise en place d'un protocole de criblage de souches pour la production d'un pigment photosynthétique.

Les microalgues sont une source de molécules actives telles que les lipides nutritionnels, les pigments et les antioxydants naturels qui présentent beaucoup d'attrait pour l'industrie agro-alimentaire. Fermentalg s'est spécialisée dans cette filière et la nutrition-santé en développant et produisant des huiles riches en acides gras poly-insaturés (oméga-3) et bientôt des colorants naturels aux propriétés antioxydantes. Ces pigments doivent présenter certaines caractéristiques afin de pouvoir répondre aux contraintes industrielles. Mon projet a porté sur l'étude et la sélection de souches productrices de l'un de ces pigments, la phycocyanine. Pour cela, des échantillons naturels ont été collectés puis les souches isolées et génétiquement identifiées. Les souches productrices de ce pigment ont été intégrées au crible visant à sélectionner celles les plus proches de la cible du projet. Dans un second temps, une caractérisation plus précise de la phycocyanine a été effectuée, comprenant une étape de lyse cellulaire et une purification par chromatographie. Mon travail a consisté à mettre en place les protocoles du criblage et de la caractérisation, puis de sélectionner les meilleures souches productrices de Phycocyanine.

Setting up of strains screening procedure for production of a photosynthetic pigment.

Microalgae are a source of active molecules such as nutritional lipids, pigments and natural antioxidants that are of great interest to the food-processing industry. Fermentalg is specialised in the development and production of products for the food industry, especially those with additional health benefits such as oils rich in polyunsaturated fatty acids (omega-3) and natural pigments with antioxidant properties. In order to be integrated into industrial processes, these pigments must correspond to the technical needs of targeted products and markets, which dictate that they have certain properties. My project was focused on the selection of strains for the production of the natural pigment, Phycocyanin. Environmental samples have been collected and strains isolated and genetically identified. The strains capable of producing phycocyanin have been screened and their phycocyanin further characterised. This, more detailed, characterisation of the phycocyanin was composed of a cellular lysis and a chromatographic purification. My work consisted in setting-up and carrying out the screening and characterisation procedures and using the results to select the best phycocyanin producing strains.

Maurène BINDELS

3A-GEM

LFB

LES ULIS ● France

Maître(s) de stage / Supervisor(s) : ***Sophie RIMBAUD***

Analyse d'éléments environnementaux dans un objectif de croissance pour l'entreprise.

En recherche de croissance, les entreprises de biotechnologie et les laboratoires pharmaceutiques explorent de nouveaux marchés grâce à des activités de fusion & acquisition, de collaboration, ou de recherche & développement. Les équipes business development et marketing stratégique utilisent leurs compétences scientifiques et économiques pour rechercher, développer et implémenter des opportunités permettant une croissance pour l'entreprise. Chaque opportunité donne lieu à un projet contenant un produit d'une autre entreprise, appelé lead. Après sélection des leads les plus prometteurs, l'équipe marketing stratégique élabore un business case qui démontre la création de valeur ajoutée du projet pour l'entreprise et sa rentabilité. Puis l'équipe prépare un business plan contenant les actions à mettre en place pour la mise sur le marché du produit.

J'ai effectué une alternance au LFB (Laboratoire français de Fractionnement et des Biotechnologies) dans l'équipe marketing stratégique, qui a deux activités principales : le business development et la réflexion stratégique, la première phase du marketing. J'ai participé à sept projets en tant que chef de projet junior en thérapies innovantes, avec deux missions principales. La première était l'analyse du portefeuille de produits du LFB pour identifier des leads, complémentaires à son activité et en adéquation avec sa stratégie. La deuxième était l'analyse d'éléments environnementaux pour les leads les plus prometteurs. Ces éléments environnementaux incluent une compréhension de la pathologie, la détection d'un besoin médical non satisfait, l'identification des traitements de référence pour la prise en charge du patient, l'analyse de l'environnement concurrentiel et la définition du marché-cible. Pour cette deuxième mission, un travail en collaboration avec des services transverses du LFB a été réalisé. Ceci a permis d'établir les prévisions de vente, le bilan financier et le calendrier prévisionnel de mise sur le marché et d'obtention du remboursement du produit par les autorités de santé. Toutes les informations recueillies sont au service du business case servant à la prise de décision concernant le lead et à la préparation du business plan final.

Analysis of environmental elements with company growth at aim.

In search of growth, biotechnology companies and pharmaceutical laboratories seek new markets thanks to mergers & acquisitions, partnerships, or research & development. Business development and strategic marketing teams use their scientific and economic skills to generate, develop, and implement growth opportunities for the company. Each opportunity gives way to a project composed of another company's product, called lead. After a selection of the most promising leads, the strategic marketing team builds a business case which highlights the project's creation of added-value for the company and profitability. Then the team prepares a business plan defining actions to be taken for the market launch of the product.

I did a work-study based experience at the LFB (Laboratoire français de Fractionnement et des Biotechnologies) in the strategic marketing team, involved in two main activities: business development and strategic planning, the first step of marketing. I participated in seven projects as a junior project manager for innovative therapies, with two main missions. The first consisted in an analysis of the LFB's product portfolio to identify leads, related or complementary to the company's activities and in line with its strategy. The second consisted in the analysis of environmental elements for the most promising leads. Environmental elements include understanding the pathology, detecting an unmet medical need, identifying gold standards for patient care, analyzing the competitive landscape, and defining the targetable market. As part of this second mission, collaborative work with cross-functional teams of the LFB was conducted. From this, sales forecasts, the financial statement, and the product's market launch sequencing and reimbursement from healthcare authorities were obtained. All gathered data support the business case used for decision-making regarding the lead and for the preparation of the final business plan.

Anne-Laure BOINET

3A-classique

AbbVie Deutschland GmbH & Co

Ludwigshafen am Rhein ● Allemagne

01/03/2018⟶31/08/2018

Maître(s) de stage / Supervisor(s) : ***Jeroen VAN BERGEIJK***

Caractérisation de voies neuro-restauratrices in vitro: CRISPR-Cas9 knock-out de régulateurs-clé et conséquences fonctionnelles.

Une grande majorité des maladies neuro-dégénératives sont, encore aujourd'hui, uniquement traitables de façon symptomatique. Le développement de nouvelles thérapies afin d'atténuer la progression de maladies telles qu'Alzheimer, Parkinson ou la sclérose en plaques est devenu l'un des focus majeurs de la recherche pharmaceutique. Dans le système nerveux central, les neurones ont une capacité de régénération limitée après avoir subi des dommages. La voie de signalisation Rho/Rho kinase (ROCK) est connue pour être impliquée dans le guidage axonal et l'excroissance des neurites ; ainsi, la modulation de cette voie pourrait permettre d'induire la neuro-régénération. Des inhibiteurs de ROCK sont actuellement étudiés au travers de modèles précliniques ou dans le cadre d'essais cliniques.
Le but de ce stage est de renforcer les connaissances actuelles au sujet de la voie de signalisation des deux isoformes de ROCK, ROCK-I et ROCK-II, par knockdown génétique et intervention pharmaceutique. L'impact sur l'activité de la voie impliquant ROCK est étudié aux échelles cellulaire et moléculaire ; pour cela, des cellules NTera2 humaines sont différenciées de façon à acquérir un phénotype neuronal. Les conséquences morphologiques sur l'excroissance des neurites, ainsi que les effets sur les substrats de ROCK sont analysés par le biais d'inhibiteurs enzymatiques spécifiques et de cellules ROCK knockout.

Characterization of neurorestorative pathways in vitro: CRISPR-Cas9 knock-out of key regulators and functional consequences.

Most progressive neurodegenerative diseases are currently still beyond cure – sometimes symptomatic treatment is available. Development of novel therapy options for attenuation of disease progression (disease modification), e.g. in Alzheimer dementia (AD), Parkinson's disease (PD) or Multiple Sclerosis (MS) has become a major focus of pharmaceutical research. In the central nervous system, neurons have limited capacity to regenerate after being damaged. Rho/Rho kinase (ROCK) signaling is known to be involved in axon guidance as well as neurite outgrowth; modulation of this pathway might offer a way to induce neuroregeneration. ROCK inhibitors are currently being explored in various preclinical models and clinical studies.
The aim of this internship is to enhance the current knowledge of ROCK1 vs. ROCK2 signaling by genetic knock-down combined with pharmaceutical intervention. The impact on pathway activity is studied on both cellular and molecular scales. To this aim, human NTera2 cells are differentiated into a neuronal phenotype. Besides morphological consequences on neurite outgrowth, effects on cellular substrates of ROCK are analyzed – using selective enzyme inhibitors and ROCK knockout cells.

Marie BOURSIER

3A-classique

Artios Pharma Limited

Cambridge ● Royaume-Uni

05/03/2018⟶05/09/2018

Maître(s) de stage / Supervisor(s) : ***Marco RANZANI***

Identification de combinaisons présentant une synergie entre des composés ciblant les voies de réparation de l'ADN et des thérapies classiques contre le cancer.

Les cellules cancéreuses sont souvent porteuses de mutations qui altèrent certains des mécanismes redondants de réparation de l'ADN dont sont dotées les cellules eucaryotes. Tout en contribuant à la transformation, à la croissance et à la prolifération des cellules, elles les rendent plus dépendantes des mécanismes toujours fonctionnels. Cibler les protéines impliquées dans ces voies peut permettre d'exploiter ces vulnérabilités synthétiques pour tuer spécifiquement les cellules cancéreuses.
L'objectif de mon stage était d'identifier des traitements présentant une synergie avec les composés d'Artios qui ciblent les molécules impliquées dans ces voies de réparation de l'ADN. J'ai contribué à l'optimisation de tests clonogéniques et de tests de prolifération pour mesurer la synergie entre les composés d'Artios et plusieurs agents chimiothérapeutiques dans des lignées cellulaires représentant des modèles de déficience en recombinaison homologue. Nos cribles ont permis l'identification d'au moins 3 traitements qui présentent une synergie avec les composés d'Artios et la validation avec plusieurs composés analogues et dans différents modèles cellulaires.
La radiothérapie est également un traitement très courant pour de nombreux cancers. Nous avons exploré différentes lignées cellulaires porteuses de diverses mutations dans les voies de réparation de l'ADN, plusieurs régimes d'irradiation et différents programmes d'administration des composés et d'irradiation. Nous avons mis en place un protocole efficace et sensible de crible de l'activité de radiopotentialisation des composés d'Artios et les résultats générés ont apporté des informations utiles pour le traitement qui sera utilisé dans les études précliniques de combinaison avec la radiothérapie.

Identification of synergistic combinations between compounds targeting DNA damage response pathways and standard of care cancer therapies.

Cancer cells often carry mutations that impair some of the redundant DNA repair pathways that eukaryotic cells are endowed with. Although these mutations contribute to cell transformation, growth and proliferation, they make cancer cells more dependent on the residual DNA repair pathways that are still functional. Targeting the proteins involved in these pathways could help to exploit these synthetic vulnerabilities to specifically kill cancer cells.
The aim of my internship was to identify treatments that synergise with Artios compounds that target the molecules involved in these DNA repair pathways. I have contributed to optimise colony formation assays and cell proliferation assays to measure the synergy between Artios compounds and several chemotherapeutic agents in cell lines representing models of homologous recombination deficiency. In our screens, we have identified at least 3 chemotherapeutic drugs that synergized with Artios DNA repair inhibitors and validated these results with multiple analogue compounds and in different disease-relevant model cell lines.
Radiotherapy is also a very common treatment for many types of cancer. I participated in the development of an assay to screen Artios compounds for their ability to radiopotentiate. We explored the use of cell lines carrying different background mutations in DNA repair pathways, several irradiation regimens, and different schedules of compound and irradiation administration. Overall, we have implemented an efficient and sensitive protocol to screen the radio-potentiation activity of Artios compounds. The results I generated also provided useful information for the treatment regimen to be used in preclinical studies combining the compounds with radiotherapy.

Nadia CAMPANA

3A-CPRO

SANOFI

VITRY SUR SEINE ● France

02/10/2017⟶19/11/2018

Maître(s) de stage / Supervisor(s) : ***Capucine MASPERO***

Optimisation de la stratégie de la validation Stérilisation In Place (SIP) pour les bioréacteurs.

La Sterilization In Place (SIP) est un procédé permettant de stériliser les équipements par injection de vapeur saturante à une température ≥ 121°C afin de détruire les spores et la charge microbienne.
Le maintien en l'état validé des procédés de stérilisation est assuré par la mise en oeuvre de la validation périodique. Afin de démontrer la robustesse des cycles de traitement thermique en place des équipements en routine, les cycles sont validés en conditions worst case.
Deux approches (« Overkill » et « Worst case ») sont actuellement utilisées sur le site de Sanofi Vitry. La méthode « overkill » est la principale méthode de validation pour les équipements thermostables tels que l'acier inoxydable. Elle est également plus facilement acceptée par la réglementation. En effet, l'objectif de cette méthode est d'assurer un Niveau d'Assurance de Stérilité (NAS) indépendamment de la biocharge microbienne réelle sur l'équipement. Cette méthode suppose à la
2 /2
fois une population et une résistance de la biocharge microbienne plus élevées de ce qu'on pourrait s'attendre en réalité (bioburden worst case).
Une bonne compréhension de la stérilisation à la vapeur saturante est nécessaire pour éviter les erreurs pouvant amener à des potentielles contaminations, une baisse de la productivité, une mauvaise performance et un risque qualité.
Mon sujet de stage consiste à mettre en place la recette SIP par l'approche overkill pour les bioréacteurs 10K et 3K afin d'être robuste lors des validations périodiques de ces équipements et conforme par rapport aux critères d'acceptations SIP définies dans les procédures Sanofi internes et la réglementation associés.

Optimization of Sterilization In Place (SIP) for validation strategy of bioreactors by the overkill method.

Sterilization In Place is a process for sterilizing equipment by injection of saturated steam at a temperature ≥ 121 ° C to destroy spores and microbial load whitin the equipment.
The maintain of sterilization processes in their validated state is ensured by the implementation of periodic validation. In order to demonstrate the robustness of the heat treatment through the equipment, SIP's cycles are validated in worst case conditions. Two approaches ("Overkill" and "Worst case") are currently used on the Sanofi Vitry plant.
Overkill strategy is commonly used in pharmaceutical industry and is the main method of validation for thermostable equipment (stainless steel). It is also more easily accepted by regulation and authority. Indeed, the goal of this method is to ensure a level of sterility assurance (NAS) regardless of the actual microbial bioburden on the equipment. This method assumes both a higher population and microbial bioburden resistance than one would expect in reality (bioburden worst case).
A good understanding of saturated steam sterilization is necessary to avoid mistake that can lead to potential contamination, decreased productivity, poor performance and quality risk.
My internship subject is to implement the SIP recipe by the overkill approach for 10K and 3K bioreactors in order to be robust during periodic validations of this equipment and also compliant with the SIP acceptance criteria defined in Sanofi procedures and regulations guidelines.

Lauriane COMBES

3A-CPRO

MANE & FILS SA

LE BAR-SUR-LOUP ● France

04/09/2017⟶30/09/2018

Maître(s) de stage / Supervisor(s) : ***Fanny LAMBERT***

Recherche de procédés de glycosylations.

La glycosylation de molécules, c'est-à dire l'ajout d'un glucose, est particulièrement étudiée pour les propriétés biologiques des glycosides telles que leur influence sur la reconnaissance cellulaire, sur la stabilité des peptides mais également la diminution de toxicité de certaines substances pharmacologiques. De plus, de nombreuses molécules aromatiques telles que les phénols ou les flavonoïdes sont présentes sous leur forme glycosylée dans les plantes afin d'augmenter leur concentration et leur solubilité dans la cellule sans augmenter leur toxicité.
La glycosylation peut se faire par des glycosyltransférases catalysant une transglycosylation. Cependant ces enzymes impliquent un donneur de glucose activé tel que l'UDP glucose qui a un coût fortement élevé. Cette réaction peut également se faire via des glycosides hydrolases qui ,en conditions normales, hydrolysent une liaison glucosidique. Cependant, dans certaines conditions, ces enzymes peuvent catalyser une transglycosylation ou une hydrolyse inverse.
Mon projet s'insère dans un contexte de réduction de sel et de sucre dans les aliments de la grande distribution qui a entrainé une diminution de leur appréciation par le consommateur et a modifié le goût des préparations. Des études visant à compenser la diminution de la perception de la saveur ou à rétablir le goût du produit affecté par les édulcorants ont été réalisées. Les résultats ont mis en évidence que les molécules glycosylées, telles que les phénols, pouvaient avoir un rôle positif. Le but de mon projet est d'étudier les différentes manières d'obtenir une molécule glycosylée, et de comparer l'efficacité des différentes méthodes développées. Plusieurs méthodes de glycosylations sur l'eugénol ont été étudiées: l'utilisation de glycosyltransférases mais également de glycosides hydrolases.

Research of glycosylation processes.

Molecule glycosylation, that means the attachment of a glucose molecule, is particularly studied due to the biological properties of glycosides such as their impact on cellular recognition, peptide stability and on the decrease of drug toxicity. Moreover, numerous glycosylated aromatic molecules like phenols or flavonoids are located in plants to increase their intracellular concentration and solubility without increasing their toxicity.
Glycosylation can occur thanks to a transglycosylation catalyzed by glycosyltransferases. However, these enzymes need activated glucose donors such as the UDP-glucose which is expensive. This reaction can also be catalyzed by hydrolases, which in regular conditions, hydrolyse a glycosidic bond. Nevertheless, they can also catalyse transglycosylation or reverse hydrolysis.
My project is incorporated in a salt and sugar reduction program. This program develops methods to make food products that taste similar to their full salt and sugar counterparts. This reduction has involved less appreciation of products by consumers because of a taste modification. Studies to compensate or to recover the loss in sensory perception involved by sweeteners had demonstrated that glycosylated molecules could be a solution. My project aim is to work on different glycosylation processes and to compare their efficiency. Several methods have been studied: glycosyltransferases and several hydrolases use.

Leila DJEMAL

3A-classique

MERCK SA

FENIL-CORSIER ● Suisse

01/03/2018⟶31/08/2018

Maître(s) de stage / Supervisor(s) : ***Daniel-Andre IMESCH***

Caractérisation de matières premières et étude de leurs impacts sur la production d'un anticorps monoclonal.

Dans l'industrie pharmaceutique, les procédés de production sont fixés de sortes à atteindre la meilleure productivité et qualité du produit. Toutefois, les milieux de cultures cellulaires sont parfois de composition chimiquement indéfinie. Bien que plus économique, un changement de lot de ces matières premières pourrait potentiellement impacter la productivité. C'est pourquoi, des études de qualification des matières premières sont réalisées par le service Manufacturing Science and Technology. Ces études devraient être idéalement réalisées à l'échelle de production, mais cela n'est en pratique pas possible pour des contraintes de sécurité, de praticité et économique. Des modèles à petite échelle représentatifs ont donc été développés afin de mener des études de validation, d'investigation ou exploratoires. L'objectif de ce projet est de caractériser certaines matières premières et d'évaluer l'impact d'un changement de lot sur la productivité en shake flask. L'ensemble des données obtenues permettront de déterminer statistiquement les paramètres ayant un impact potentiel sur la productivité. Ces critères pourront ainsi être utilisés pour la sélection des lots de matières premières auprès des fournisseurs.

Characterization of raw materials and study of their impact on the monoclonal antibody production.

In pharmaceutical industry, a manufacturing process is performed to achieve the highest productivity and quality of product. However, composition of cell culture medium are sometimes chemically indefinite. Although more economical, a batch change of these raw materials could potentially impact productivity. Therefore, qualification of raw materials are carried out by the Manufacturing Science and Technology team. These studies should ideally be carried out at the production scale, but this is not possible in practice for safety, practicality and economic constraints. Representative small-scale models have been developed to conduct validation, investigation or exploratory studies. The objective of this project is to characterize some raw materials while evaluating the productivity associated with batch variability in shake flask. All data will be used to determine parameters having a potential impact on productivity statistically. These criteria can be used for the selection of suppliers' batches of raw materials.

Binu DUA

3A-classique

MERCK BIODEVELOPMENT

MARTILLAC ● France

06/03/2018⟶31/08/2018

Maître(s) de stage / Supervisor(s) : ***Marilyne FAILLY***

Transfert de la Technologie de la plateforme de génération de lignée cellulaires CHOZN ® GS-/- pour l'expression d'anticorps monoclonaux.

La première étape du processus de production d'anticorps monoclonaux débute par l'étape de la génération de lignée cellulaire. Une bonne qualité avec une forte productivité sont des éléments cruciaux pour n'importe quelle lignée cellulaire. La lignée CHOZN ® GS-/-, lignée fournie pour ce stage, a été reçue de Merck Millipore Sigma, US. L'objectif de mon projet est de valider le transfert de technologie la plate-forme CHOZN ® GS-/- des Etats-Unis vers le site de Martillac.

La lignée cellulaire CHOZN ®GS-/- est la première lignée cellulaire CHO au monde qui est doublement mutée au niveau de la glutamine synthétase, rendant les cellules dépendantes de la supplémentation exogène de L-glutamine. La lignée cellulaire fut transfectée par électroporation avec 4 plasmides différents contenant les gènes codant pour un anticorps (choisi selon leur difficulté à être produit par des cellules de mammifères). Les cellules électroporées ont été ensemencées dans des plaques 96 puits (pour créer des minipools) puis dans des plaques 6 puits afin de sélectionner les 25 meilleurs en fonction de leurs productivités.

Une fois en shake flask, les 25 meilleurs MP subiront un dernier test de productivité en mode fed batch et seront congelés. Les meilleurs d'entre eux seront sélectionnés et décongelés plus tard pour générer une lignée cellulaire monoclonale stable.

Technology transfer of the cell line generation platform CHOZN ®GS -/- for monoclonal antibody expression.

The first step of monoclonal antibody production process begins with the step of cell line generation. A good quality with high productivity titer value is very crucial for any cell line in the biotech or pharmaceutical industry. The Cell line CHOZN ®GS -/- provided for this internship has been received from Merck Millipore Sigma, US. The goal of my project was to validate the transfer of technology of the CHOZN ® GS-/- platform from the United States to the Martillac site.

The cell line CHOZN ® GS-/- is the world's first CHO cell line that has double mutation of the Glutamine Synthase enzyme making the cells dependent on exogenous supplementation of L- glutamine. This cell line had been transfected using electroporation method with 4 different plasmids containing genes coding for antibodies (easy - hard to produce). The transfected cells were first seeded in 96 well plates (to create minipools) and next in 6 well plates to select the best 25 according to their titers obtained at the end of productivity assessment.

These high producing minipools were expanded in shake flasks and after passing the productivity test in fed batch mode, these minipools were cryopreserved. The best of them will be selected and thawed later for generating a stable monoclonal cell line.

Kevin EDJAGA NANGA

3A-CPRO

MERCK BIODEVELOPMENT

MARTILLAC ● France

Maître(s) de stage / Supervisor(s) : ***Christelle SIHABOUT***

02/10/2017→28/09/2018

Mise en place d'une plateforme de Dual Screening pour la purification.

Au sein du site Merck Biodevelopment à Martillac, le service de développement microbien est en charge de définir et d'optimiser des procédés de production et de purification pour des protéines issues de microorganismes. Ces procédés doivent permettre d'atteindre les spécifications requises sur le produit final tout en étant transférables à grande échelle.

Généralement le procédé de purification, développé par le service DownStream Process, inclus au moins deux étapes de chromatographies : la capture et le polissage.

Actuellement, ces étapes sont optimisées séquentiellement : la capture est développée dans un premier temps puis basé sur les résultats obtenus, le polissage est développé dans un second temps. Cependant, il ne faut pas oublier que ce sont deux étapes complémentaires qui permettront d'éliminer des contaminants différents.

En définissant les paramètres de ces étapes séparément, la découverte du procédé optimal n'est donc pas garantie et le temps de développement peut être très long.

C'est la raison pour laquelle, mon projet a pour but de mettre en place une plateforme de « dual screening » pour la purification qui permettra de développer simultanément la capture et le polissage.

Pour ce faire, une plateforme robotisée (Tecan® Freedom Evoware) est utilisée pour effectuer du criblage haut débit de conditions et de résines chromatographiques. Cette plateforme permet de diminuer le temps des expériences mais aussi la quantité de matériel nécessaire à l'étude, réduisant ainsi les coûts de développement du procédé de purification.

Pour la mise en place de cette plateforme, une première molécule est utilisée. Des tests de capacité et de conditions d'accrochage ont été effectués en utilisant 8 CEX (Cation Exchange chromatography) et 8 AEX (Anion Exchange chromatography) préalablement sélectionnées parmi celles disponible sur le marché. Ces premiers tests regroupent un total de 64 conditions qui ont permis de réduire le nombre de résines et de conditions pouvant potentiellement mener vers un procédé de purification à deux étapes respectant les spécifications requises en termes de rendement, pureté et qualité de la molécule d'intérêt.

Establishment of a Dual Screening platform for purification.

Within the site of Merck Biodevelopment at Martillac, the microbial development department is charged with defining and optimizing production and purification processes for proteins derived from microorganisms. These processes must allow to reach required specifications regarding the final product while being transferable at large scale.

Generally, the purification process, developed by the DownStream Process service, include at least two chromatography steps: the capture and the polishing.

Currently, these steps are optimized sequentially: on a first instance, the capture step is developed then, based on results obtained, the polishing is developed in a second step. However, it must not be forgotten that they are two complementary steps that will allow the removal of different contaminants.

By defining these steps parameters separately, the discovery of an optimal process is not guarantee and the development time can be very long.

That is the reason why, my project aims to set up a dual screening platform for purification that will allow the simultaneously development of the capture and polishing steps.

For this purpose, a robotic platform (Tecan® Freedom Evoware) is used to perform high throughput screening of chromatographic conditions and resins. This platform enables time saving and decrease the quantity of substance needed for the study, thus reducing the purification process development costs.

For the establishment of the platform, a first molecule has been used. Tests of capacity and binding conditions have been done with 8 CEX (Cation Exchange chromatography) and 8 AEX (Anion Exchange chromatography) selected beforehand among those available on the market. These first tests group a total of 64 conditions that have allow the reduction of the number of resins and conditions that can potentially lead to a two steps purification process that allow to reach the required specifications in term of yield, purity and quality of the molecule of interest.

Julie EYMARD

3A-CBI

UCB PHARMA

BRAINE L'ALLEUD ● Belgique

26/03/2018⟶14/09/2018

Maître(s) de stage / Supervisor(s) : ***Coralie BORROSSI***

Culture de cellules mammifères à grande échelle avec un focus sur les enjeux de la clarification/Large scale mammalian cell culture and clarification challenges.

Depuis une vingtaine d'années, le nombre d'anticorps monoclonaux (mAb) disponibles pour des applications thérapeutiques ne cesse d'augmenter. Afin de répondre aux attentes du marché et rester compétitives, les entreprises biopharmaceutiques cherchent donc constamment à maximiser leur productivité en anticorps et à en développer de nouveaux.
Les anticorps thérapeutiques sont couramment exprimés lors de la culture des cellules CHO (Chinese Hamster Ovary), souvent choisies pour leur capacité à produire des molécules complexes et bioactives chez l'Homme. A UCB, les CHO sont cultivées en bioréacteurs et sécrètent les anticorps dans le milieu de culture. A la fin de l'étape de production, l'objectif est de récupérer la molécule d'intérêt en vue de la purifier. Les techniques de clarification (comprenant généralement une centrifugation et des filtrations) permettent de séparer les cellules et débris cellulaires du milieu de culture dans lequel se trouvent les anticorps sécrétés. Ces étapes sont essentielles pour assurer la purification des anticorps. Cependant, de nombreuses ressources sont généralement dépensées pour les optimiser et mieux les comprendre, notamment en raison de la complexité et de l'hétérogénéité des composants présents dans le milieu en fin de culture.
A UCB, les activités de développement relatives aux procédés dédiés à la production de biomolécules thérapeutiques sont réalisées par l'équipe Upstream Sciences (UPS). Ce groupe s'intéresse notamment à l'optimisation ainsi qu'aux transferts des procédés de cultures cellulaires vers des échelles industrielles (jusqu'à 15000 L). Dans l'objectif de perfectionner les bioprocédés existants, mon stage réalisé au sein de l'équipe UPS, s'est articulé autour de plusieurs projets tels que :
- Evaluer l'impact d'un nouvel agent de sélection pour son utilisation lors de la phase d'expansion cellulaire, afin de diminuer les coûts engendrés lors de cette étape ;
- Mener à bien une investigation à échelle laboratoire pour déterminer les paramètres de filtration optimaux transférables à grande échelle.

Comparability study of selective agent & clarification challenges during mammalian cell culture.

In the last two decades, the market for therapeutic monoclonal antibodies and antibody-related molecules has significantly grown. In order to meet the market expectations and stay competitive, biopharmaceutical industries have to reach higher productivities by optimizing their drug development processes. Nowadays, high yields of antibodies are thus needed. Chinese Hamster Ovary cells (CHO) are the most frequently used production host as they make possible the production of complex biomolecules commonly active in humans. At UCB, CHO are cultivated in bioreactors and they secrete the monoclonal antibodies (mAbs) into the cell culture fluid. The harvest steps (generally including a centrifugation and subsequent filtrations) take place as soon as the culture is finished to isolate the therapeutic molecule from the feedstock. Removal of cells, cellular debris and aggregates are required prior downstream purification of antibodies to protect the chromatography's resins. However, a lot of resoürces are spent to optimize and gain a better understanding of this step as the complex and heterogeneous nature of cell culture components present an unique challenge. At UCB, cell culture process development for the production of biologies is performed by the Upstream Sciences (UPS) team. The main activity of the group is to develop and to transfer cell cultqre and harvest processes to industrial scales (up to 15000 L). In order to optimize the existing processes, the aim of my intemship was organized around several projects:
- Evaluating the impact of a new raw material (a selective agent) aimed to be used during the expansion phase of cell culture, in order to lower costs incurred at this step ;
- Leading a lab scale investigation to identify the optimal set points of filtration implementable at large scale.

Hugo FAURE

3A-classique

CONFO THERAPEUTICS

Bruxelles ● Belgique

01/03/2018⟶31/08/2018

Maître(s) de stage / Supervisor(s) : ***Thomas FONTAINE***

Identification et caractérisation d'anticorps conformationnels pour le criblage de ligands aux RCPG.

Confo Therapeutics est une entreprise spécialisée dans la découverte de médicaments qui construit un portfolio de programmes basé sur sa propriété Confo® technology, en utilisant des fragments d'anticorps ou "Confobodies" pour verrouiller intrinsèquement des conformations fonctionnelles instables de RCPGs comme point de départ pour la découverte de médicaments. Un Confobody est un fragment d'anticorps à domaine unique sans chaine légère dérivant d'un anticorps de camélidé. En imitant le rôle d'une protéine G, les Confobodies verrouillent le RCPG dans sa conformation active. La découverte de Confobodies a pour but de faciliter le criblage de composés et de permettre l'identification de substances chimiques distinctives pour la découverte par l'entreprise d'agonistes permettant de sélectionner les voies de signalisation désirées. Le projet a pour but d'identifier un nanobody spécifique dérivé d'une chaine lourde de lama via phage display. Après purification, une caractérisation complète est réalisée par cytométrie de flux et test d'affinité.

Identification and characterisation of conformational-sensitive antibodies for GPCR drug screening.

Confo Therapeutics is a drug discovery company building a portfolio of first-in-class programs based on its proprietary Confo® technology, using antibody fragments or "Confobodies" to lock inherently unstable functional conformations of GPCRs as a superior starting point for drug discovery. A Confobody is a single-domain antibody fragment lacking a light chain that is derived from a camelid antibody. By mimicking the role of the G protein, Confobodies lock the GPCR in its active conformation. The discovery of Confobodies aims to facilitate the screening of chemical compounds and to enable the identification of differentiating chemical matter for the discovery of pathway-selective agonists by the company. The project aims to identify a target-specific nanobody derived from llama heavy chain antibody via phage display. After purification, a full characterisation is performed via flow cytometry and binding assay.

Camille FAVAREL

3A-CPRO

MERCK BIODEVELOPMENT

MARTILLAC ● France

Maître(s) de stage / Supervisor(s) : ***Sandrine FISCH***

02/10/2017→28/09/2018

Développement d'un milieu synthétique.

Lors du développement d'un procédé de fermentation, l'objectif des laboratoires pharmaceutiques est la production de molécules d'intérêt à usage thérapeutique. Pour cela, des micro-organismes sont placés dans des conditions optimales pour leur croissance et leur production. Un des paramètres essentiels est le choix du milieu de culture.

Ces milieux existent généralement sous deux formes ; riche ou synthétique. La composition qualitative et quantitative des milieux chimiquement définis (ou dits synthétiques) est connue très précisément par rapport aux milieux riches (appelés aussi complexes). La composition de ces-derniers est variable en fonction des sources et des numéros de lot des peptones ou des extraits de levure utilisés. Ainsi, définir exactement la nature des composants d'un milieu de culture, de même que leur concentration, consiste en un avantage certain dans l'industrie pharmaceutique où le contrôle des produits est primordial.

Actuellement le département microbien a principalement recours à des milieux complexes pour les cultures bactériennes. Le dessein du laboratoire est donc de développer un milieu synthétique qui remplacerait les milieux riches utilisés en routine. Il permettrait la croissance de plusieurs clones Escherichia coli ainsi que la production des protéines recombinantes propres à chaque souche.

La croissance et la production d'une souche E. coli a déjà été observée en présence d'une solution de sels et d'éléments traces. Néanmoins cette solution peut être améliorée et son efficacité sur d'autres souches doit être confirmée. La finalité est de se rapprocher d'une production en protéines recombinantes équivalente à celle permise par les milieux complexes.

Afin de définir le milieu synthétique optimal, différents essais de croissance et de production ont été réalisés en faisant varier la composition de la base salée déjà existante pour faciliter sa préparation. Des suivis de croissance en microplaques, erlenmeyer flasks (FEMs) et de production en fermenteurs ambr250® ont été réalisés lors de cultures sur deux souches d'E. coli utilisées couramment dans le laboratoire. La seconde étape de l'optimisation de ce milieu synthétique a été d'ajouter des vitamines et/ou des acides aminés à la base salée déjà définie. L'impact de ces composants, ajoutés au milieu synthétique, seuls ou combinés entre eux, et à différentes concentrations, a été testé sur la croissance et la production des deux souches E. coli. Pour cette étude, des cultures en microplaques ont d'abord été conduites afin de définir l'effet de ces éléments sur la croissance et définir une potentielle toxicité. Puis l'impact des composants semblant favoriser la croissance des clones a été vérifié lors de cultures en FEMs. La production des souches dans ces conditions a été observée lors de cultures en mode fed-batch en ambr250® grâce à un dosage protéique via des SDS-PAGE. A posteriori des analyses UHPLC ont apporté des informations sur les concentrations des acides aminés dans le milieu et donc indirectement sur la production des acides aminés par les souches lors de leur culture.

Synthetic medium developement.

In fermentation processes, the aim of pharmaceutical companies is to produce therapeutic molecules of interest. To this end, micro-organisms need optimal conditions for both their growth and their production. One of the main parameters is an adequate cell culture medium.

There are mostly two kinds of media: complex or synthetic. The qualitative and quantitative composition of chemically defined culture media (also called synthetics or defined ones) is precisely known whereas the composition of the complex ones is not. Their composition depends on the provenance but also on the batch number of peptones and yeast extracts used. Thus, knowing the exact concentration and nature of the components of a growing culture medium is a major asset for the pharmaceutical industry where product control is essential.

Currently the microbial culture department uses complex culture media to allow the growth of bacteria. This is the reason why the laboratory's objective is to develop a synthetic culture medium that could replace the complex culture media commonly used. This culture medium would allow the growth of several Escherichia coli strains but also the production of recombinant proteins which are specific to each strain.

The growth and the production of an E. coli clone have already been observed with a solution made of salts and trace elements. Nevertheless, this mix can still be improved and its effectiveness on other strains must be validated. The purpose is to meet a recombinant proteins production equivalent to the production allowed by complex culture media.

To define the optimal synthetic culture medium, many tests of growth and production have been performed with different compositions of the salted base with the aim to facilitate its preparation. Growth has been observed in microwell plates and in Erlenmeyer flasks (FEMs) such as the production which was followed in ambr250® fermenters for two E. coli strains frequently used in the laboratory. The second step of the synthetic culture medium optimization was to add vitamins with or without amino acids to the salted base already defined. The impact of these components, added alone or mixed in the synthetic culture medium, has been observed on the growth and on the production of two E. coli strains. For this study, cultures in microwell plates have been carried out to determine the influence of these molecules on the growth and to check the absence of any potential toxicity. Then, the impact of components which seemed to boost the strain's growth has been verified during FEMs cultures. Under these conditions the clone's production has been analyzed in ambr250® fed-batch fermentations using SDS-PAGE protein assays. Finally, analysis performed by UHPLC methods brought knowledge about the concentration of amino acids inside the medium. Indirectly this information teaches us the amino acid production by Escherichia coli during its growth.

Thomas FAVRAUD

3A-CBI

GLENMARK PHARMACEUTICALS SA

LA-CHAUX-DE-FONDS ● Suisse

Maître(s) de stage / Supervisor(s) : ***Patrick VETSCH***

03/04/2018⟶14/09/2018

Développement d'alternatives au procédé actuel utilisé à Glenmark de clarification de culture cellulaire

La clarification est une étape clé dans le développement d'une molécule thérapeutique par procédé biotechnologique. De part une succession de procédés unitaires comme la filtration en profondeur ou la centrifugation, la clarification permet de séparer le milieu de culture contenant la protéine d'intérêt, de la biomasse résiduelle générée en phase de production. Cette étape se focalise sur des particules de grosses tailles (cellules, débris) puis les étapes chromatographiques suivantes seront plus spécifiques des particules de plus petite taille et du produit ciblé.
Le procédé de clarification actuel utilisé à Glenmark montre de nombreuses limitations, notamment lors de procédé de culture cellulaire en bioréacteur ayant une forte accumulation de biomasse. Le but de ce stage est de caractériser cette étape grâce à des évaluations à petite échelle du filtre en profondeur actuel. Par la suite, les performances de différents filtres commerciaux et de d'autres techniques complémentaires de séparation, telles que la centrifugation et la floculation seront évaluées.
La finalité de ce travail est donc de développer une plateforme de clarification alternative, robuste pour tous types de procédés, en préparant efficacement les étapes de purification suivantes.

Development of alternatives for Glenmark's cell culture clarification process

Clarification is a key step during the manufacturing of a biopharmaceutical molecule. This process is composed of multiple unit operations like depth filtration or centrifugation, which allow to remove residual biomass generated during the production phase from the Cell Culture Fluid (CCF) which is containing the product of interest. This step is mainly focused on the removal of large particles like whole cells and cell debris, and the subsequent chromatography steps will be more focused on removing small particles.
The current clarification process has shown several limitations in the past especially with high biomass accumulation processes. The aim of this internship is to assess the current clarification process by conducting small-scale trials to evaluate the current depth filter and understand its limitations. Comparison studies with others commercial filters and with alternatives technologies like centrifugation, flocculation will then be assessed.
Consequently, the deliverable of this internship is to build a robust alternative clarification platform process that can meet downstream needs and uncontrolled variability of the initial cell culture process

Marie FONTAINE

3A-classique

OUAT !

BRUXELLES ● Belgique

Maître(s) de stage / Supervisor(s) : ***Emilie PINARD***

05/03/2018⟶05/09/2018

Conception d'applications de simulations industrielles en réponse aux challenges de transformation digitale des entreprises biopharmaceutiques.

Alors que l'industrie biopharmaceutique est à l'aube d'une transition digitale (industrie 4.0), on observe une réelle volonté d'exploiter de nouvelles technologies afin d'optimiser le rendement des unités de production. En réponse à ces besoins, la société OUAT ! a mis au point HakoBio, une plateforme web qui permet à ses utilisateurs de modéliser leurs procédés, leur environnement ou leurs usines en 3D. Ainsi, les acteurs de l'industrie pharmaceutique créent grâce à cet outil un jumeau numérique de leur industrie. Ils peuvent alors visualiser leurs projets sur écran ou de façon immersive grâce à des technologies innovantes telles que la réalité virtuelle ou augmentée. Hakobio répond alors aux besoins des différents étapes de chaîne de valeur des entreprises biopharmaceutiques, depuis la planification jusqu'aux opérations, formation et maintenance. Afin d'apporter des solutions sur-mesure aux différentes étapes et besoins, HakoBio a été conçue pour être entièrement adaptée, par intégration d'extensions et de nouvelles fonctionnalités appelées « add-ons ».
Au cours de mon stage et en tant que Product Manager mon rôle consistait à:
•recueillir les besoins des clients pour établir un cahier des charges (URS).
•traduire ces besoins en fonctionnalités spécifiques qui constitueront les « add-ons »
•déterminer des échéances du projet, découpé en étapes, et des ressources nécessaires au développemement des add-ons

HakoBio et ses fonctionnalités sont pensées pour l'utilisateur grâce à une expérience utilisateur (UX) et une interface untilisateur (UI) simplifiées et optimisées. Une fois les concepts UX/UI établis, les développeurs peuvent créer les codes de ces « add-ons ». Le rôle du Product Manager est donc central et doit faciliter la communication entre les différents acteurs du projet afin de garantir la livraison du produit fini, dans les temps et selon les requis pré-définis.

Lors de mon stage, j'ai plus particulièrement participé à la gestion de l'intégration de deux « add-ons » : le Process Configurator et le Document Center. Le Process Configurator est un outil permettant aux utilisateurs de collaborer avec leurs clients sur le développement de leurs procédés au travers d'une seule plateforme, centralisée. Ils pourront intégrer des équipements, leur associer des étapes de procédé ainsi que différents paramètres et faciliter la simulation de flux. Le Document Center permet de centraliser, de localiser dans l'espace du contenu multimédia et de faciliter l'accès à l'information au sein de l'entreprise.

Conception of add-ons for industrial simulations to answer the challenges of the digital transformation of the biopharmaceutical industries.

The biopharmaceutical industry is currently at the edge of a digital transformation called industry 4.0. There is a strong will to exploit new technologies to maximise the production capacities. To answer these needs, OUAT! society created a web platform HakoBio. Users can modelize their processes, their facilities or their environment in 3D. Then, actors of the pharmaceutical industry create a digital twin of their industry, thanks to HakoBio. They can visualize their projects on screen or they can get immersed into them using innovative tools such as virtual reality or augmented reality. HakoBio answers the needs identified in the different fieds of the biopharmaceutical industry : from planification to operations, training and maintenance. The platform was conceived and entirely adapted to these challenges by the integration of new features and new functionnalities named add-ons.
During this internship and as a Product Manager my role was to :
•Gather the customer's needs to write user requirement specifications (URS).
•Understand and translate these needs into new functions that will constitute the add-ons
•Determine a roadmap with clear steps and to gather the required ressources for the add-ons development

HakoBio and its add-ons are customer-centric thanks to a user experience (UX) and a user interface (UI) simplified and optimized. Once these concepts are built from the URS, the developers can create the code for the add-ons. The Product Manager's role is essential and ensures the communication between the project's parties. The deliverable will then respect the deadlines and the customer's first requirements.

During this internship, I participated to the integration of two add-ons : the Process Configurator and also the Document Center. With the Process Configurator, users will collaborate with their customers on their processes. They will integrate 3D equipment, associate steps to them with different parameters and work on flow simulations. With the Document Center, users will be able to centralize, to locate the multimedia content within 3D HakoBio environment and ease the access to information in their company .
These two add-ons will be added the tools portfolio provided by HakoBio to create complete processes, training sessions with adapted content and proofs of concepts for equipment sales.

Laura FOURMENT

3A-CPRO

MERCK BIODEVELOPMENT

MARTILLAC ● France

Maître(s) de stage / Supervisor(s) : ***Flavien THUET***

09/10/2017→28/09/2018

Optimisation du template DSP Développement.

A ce jour, le marché français des anticorps monoclonaux à visée thérapeutique est en pleine croissance et est estimée à plus de 7,9 milliards d'euros. En effet, ces derniers présentent un haut potentiel de traitement contre les cancers et les maladies auto-immunes. Face à une demande en perpétuelle augmentation, les entreprises bio-pharmaceutiques comme Merck Biodevelopment sont tenues de développer et de produire des substances actives innovantes de plus en plus rapidement. L'utilisation de certaines lignées cellulaires accroît la production de protéines thérapeutiques. Cependant, ces performances entrainent la production de protéines contaminantes : les HCP (Host Cell Protein), qui présentes en grande quantité, peuvent être nuisibles ou inactiver la substance active. Afin de rester attractif et compétitif sur le marché, Merck Biodevelopment est obligé d'adopter des stratégies de développement « fast track » en réduisant ainsi le temps de développement des procédés avant le passage en production tout en maintenant un haut niveau de qualité. Pour supporter le développement rapide des procédés, des méthodes et équipements haut-débit de quantification et de purification peuvent être implémentés. Ces technologies multipliant le nombre d'expériences par rapport à l'approche actuelle, permettront une meilleure maîtrise des procédés en déterminant les conditions optimales à l'élimination des contaminants lors des étapes de purification d'anticorps monoclonaux.

DSP Development template optimization.

Currently, the French market of monoclonal antibodies with therapeutic applications increases and is estimated more than 7,9 billion of euros. Indeed, they represent a high potential of treatment against cancers and autoimmune diseases. In view of a constantly increasing, the bio-pharmaceutical factories like Merck Biodevelopment must develop and produce innovative drug substance more and more quickly. The use of specific cellular lines expands the production of therapeutic protein. However, these performances result in a production of contaminant proteins like HCP (Host Cell Protein), which in large quantity, can be harmful or inactivate the drug substance. To stay attractive and competitive on the market, Merck Biodevelopment must introduce « fast track » development strategies by reducing the time of processes development before the transfer to the production while maintaining a high level of quality. To support the fast processes development, high throughput quantification and purification methods and equipment can be implemented. These technologies multiplying the number of experiments compared to the current approach, will allow a better control of processes by identifying the optimal conditions to remove contaminants during the purification steps of monoclonal antibodies.

Nathan GAY

3A-CPRO

MERCK BIODEVELOPMENT

MARTILLAC ● France

Maître(s) de stage / Supervisor(s) : ***Céline THIZON***

02/10/2017→27/09/2018

Industrialisation : Amélioration du transfert de technologie et support à la production.

Le pôle Industrialisation est un service support dont la principale mission est de garantir une implémentation efficace et robuste des procédés de bioproduction issu du développement vers le département production. Cette mission intègre à la fois le processus de transfert de technologie du développement à la production et le support technique pour la résolution de problèmes au sein du département production.
L'étape de transfert de technologie, pouvant impliquer un changement d'échelle, est encadrée par un protocole de transfert de technologie qui permet d'assurer des conditions identiques entre les échelles développement production tout au long du procédé. Cependant, certaines pratiques, non répertoriées dans ce protocole, peuvent différer entre les départements et potentiellement avoir un impact sur le déroulement du process et sur la molécule. Le premier objectif de mon contrat de professionnalisation est donc de cartographier les pratiques en développement et en production, d'identifier et d'analyser les écarts à travers une analyse de risques et enfin d'aligner les pratiques ou de réduire les risques associés. L'un de mes objectifs principaux est d'améliorer la régulation de l'oxygène dans les bioréacteurs 3L, 200L et 2000L afin d'avoir des régulations précises et identiques entre chaque échelle.
Le deuxième objectif de mon contrat concerne les ressources du site. En effet, l'activité CDMO du site implique une forte variabilité des procédés selon les projets. Les ressources nécessaires à leur réalisation étant fortement dépendantes du procédé de production et de purification (volume du bioréacteur, volume de tampons à traiter, surface de filtre…), il est nécessaire de connaitre les capacités de production du site afin de savoir si un projet est réalisable. Mon objectif est donc de développer un outil permettant de mettre en évidence les étapes limitantes du process en termes de ressources pour pouvoir identifier rapidement, d'une part, la faisabilité ou non d'un projet, et d'autre part, pour évaluer facilement la possibilité de conduire en parallèle plusieurs projets dans les différentes suites GMP de la zone de production. Ce travail implique donc le recensement des équipements, la compilation des données process sur les projets antérieurs et enfin leur intégration dans un fichier automatisé.

Industrialization: Improvement of technology transfer and support to production.

The Industrialization division is a support service whose main mission is to ensure an efficient and robust implementation of bioproduction processes from the development to the production department. This mission integrates both the process of technology transfer from development to production and technical support for problem solving within the production department.

The technology-transfer step, which may involve a change of scale, is governed by a technology transfer protocol that ensures identical conditions between production development scales throughout the process. However, some practices, not listed in this protocol, may differ between departments and potentially impact the process and the molecule. The first objective of my professionalization contract is therefore to map development and production practices, to identify and analyze gaps through a risk analysis and finally to align the practices or reduce the associated risks. One of my main goals is to improve oxygen regulation in 3L, 200L and 2000L bioreactors to have precise and identical regulations between each scale.

The second objective of my contract concerns site resources. Indeed, the CDMO activity of the site implies a high variability of the processes according to the projects. Since the resources required for their production are highly dependent on the production and purification process (volume of the bioreactor, volume of buffer to be treated, filter area, etc.), it is necessary to know the production capacities of the site in order to know if a project is achievable. My goal is to develop a tool to highlight the limiting process steps in terms of resources to quickly identify, on the one hand, the feasibility of a project, and secondly, to easily assess the possibility of running in parallel several projects in the different GMP suites of the production area. This work therefore involves the inventory of equipment, the compilation of process data on previous projects and finally their integration into an automated file.

Natacha GLISSE

3A-classique

GLENMARK PHARMACEUTICALS SA

LA-CHAUX-DE-FONDS ● Suisse

05/03/2018⟶31/08/2018

Maître(s) de stage / Supervisor(s) : ***Amélie CROSET***

Caractérisation in vitro de l'activité pharmacologique et du mode d'action du GBR 1372, un anticorps bispécifique CD3xEGFR.

Le récepteur du facteur de croissance épidermique (EGFR) est surexprimé dans la plupart des cancers de type carcinomes épidermoïdes. EGFR joue un rôle central dans le développement, la croissance, la migration, la survie et la prolifération des cellules tumorales. Les thérapies ciblées anti-EGFR comme le panitumumab (Vectibix®) sont dans un premier temps efficaces mais un grand nombre de patients rechutent à cause de mutations situées sur le récepteur ou dans les protéines intracellulaires impliquées dans la voie de signalisation comme KRAS et BRAF. Rediriger les lymphocytes T du système immunitaire vers les récepteurs EGFR des cellules tumorales, à l'aide d'un anticorps bispécifique CD3xEGFR, GBR 1372, permettrait de contrer ces mécanismes de résistance.
Le but de mon projet de stage était d'évaluer l'efficacité du GBR 1372 sur des cellules tumorales positives à EGFR et de comprendre le mode d'action de l'anticorps. L'efficacité du GBR 1372 (seul ou en combinaison avec un inhibiteur) a été testée à travers des tests fonctionnels in vitro comme la lyse dirigée (RDL). De plus, des Western Blot et FACS ont été réalisés afin de voir l'impact des traitements sur l'activation de la voie de signalisation

Characterization of the in vitro pharmacologic activity and mode of action of GBR 1372, a CD3xEGFR bispecific antibody.

The Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR) is overexpressed in many squamous cancers. EGFR plays a key role in development, growth, migration, survival and proliferation of tumor cells. Antibody therapies targeting EGFR such as panitumumab (Vectibix®) have demonstrated efficacy but are limited by several resistance mechanisms due to mutations of EGFR or mutations in the downstream signalling pathways, including KRAS and BRAF mutations. A CD3xEGFR bispecific antibody, GBR 1372 from Glenmark's BEAT® platform, was developed in order to redirect T-cells to EGFR positive cancer cells and induce their lysis by circumventing these resistance mechanisms.
The aim of my internship project was to evaluate the efficacy of GBR 1372 in EGFR positive squamous cancer cells and to understand the mode of action of this bispecific. GBR 1372 efficacy (alone or in combination with an inhibitor) was tested in in vitro functional assays such as ReDirected Lysis assays (RDL). To further understand the mode of action of the molecules and downstream signalling pathway activation, Western Blot and FACS assays were used to detect phosphorylation signals.

Emilie GRANAROLO

3A-classique

KYMAB Ltd

CAMBRIDGE ● Royaume-Uni

05/03/2018⟶24/08/2018

Maître(s) de stage / Supervisor(s) : ***Dennis NORMAN***

Optimisation d'un système de vecteur CMC pour l'expression d'un anticorps au format non conventionnel.

Les anticorps thérapeutiques sont devenus des traitements majeurs pour de nombreuses maladies et représentent une part importante du marché des biomédicaments. Cependant, en oncologie et hématologie, les maladies sont souvent multifactorielles et les thérapies visant une cible unique ne sont pas toujours suffisantes. Les anticorps bispécifiques semblent offrir une solution en se liant a deux épitopes différents. Le défi avec ces anticorps au format non standard est de créer des systèmes d'expression pour leur production.
L'objectif de mon projet de stage était de développer un vecteur pour l'expression des anticorps bispécifiques. Le clonage a été réalisé en plusieurs étapes de clonage classique à l'aide d'enzymes de restriction pour la création d'un vecteur comprend deux gènes, une chaine légère et une chaine lourde. Ces vecteurs sont utilisés pour l'expression transitoire de l'anticorps dans des cellules CHO, vérifiée par Octet quantification. Afin d'optimiser l'expression, deux lignées cellulaires ainsi que différents ratios de chaines légères et lourdes ont été testés. Les vecteurs optimisés ont ensuite été transfecté dans des CHO pour permettre la génération d'une lignée cellulaire stable exprimant l'anticorps. Les différentes stratégies de transfection du vecteur ont alors été comparées par rapport à leur taux d'expression de l'anticorps par titration du surnageant des cultures cellulaires.

Optimisation of a CMC vector system for expression of non-standard antibody formats.

Therapeutic antibodies have become major treatments for various diseases and represent a large part of the biopharmaceutical market. However, in oncology and haematology, diseases are often multifactorial, and single-target therapies are not always sufficient. Bispecific antibodies appear to offer a solution by binding two distinct epitopes. The challenge with this non-standard antibody format is to generate expression systems for their production.
The aim of my internship project was to develop a vector for the expression of bispecific antibodies. The cloning was performed in several steps of classic cloning with restriction enzymes to generate double gene vectors with one light chain and one heavy chain. These vectors were used to transiently express the antibody in CHO cells, expression being verified by octet quantification. To optimise the expression, two cell lines and different ratios of heavy chains and light chain DNA were transfected. The optimised vectors were then transfected into CHO cells for stable cell line generation and expression of antibody. The different vector transfection strategies were then compared for antibody generation by measuring titre in the cell culture supernatants and performing functional assays.

Lucie GRINDES

3A-classique

SANOFI

MARCY L'ÉTOILE ● France

05/03/2018⟶31/08/2018

Maître(s) de stage / Supervisor(s) : ***Marie IZAC***

Identification de conditions de référence et de conditions perturbatrices pour la production d'antigènes vaccinaux bactériens sur un modèle à échelle réduite de culture industrielle.

Sanofi-Pasteur, division vaccin de Sanofi, dispose d'un portefeuille de 21 vaccins contre des maladies virales (poliomyélite, rage, rougeole, …) et bactériennes (diphtérie, tétanos, coqueluche, …).
Certains procédés de fabrication sont anciens et les connaissances liées à ces procédés, notamment de culture microbienne, sont restreintes. Des variations des paramètres de culture peuvent entraîner une modification de la production des antigènes vaccinaux. La compréhension du métabolisme et de la physiologie cellulaire est donc essentielle pour améliorer les connaissances des procédés industriels.
Le projet d'étude porte sur la culture industrielle d'une bactérie pathogène dont les antigènes sont inclus dans plusieurs vaccins de Sanofi Pasteur. Le premier objectif du projet est d'identifier des conditions de culture de référence. Ces conditions doivent permettre d'obtenir des profils de production de biomasse et d'antigènes proches de ceux de production. Le second objectif du projet d'étude est d'identifier des conditions de fermentation perturbatrices vis-à-vis de la production des antigènes vaccinaux. Plusieurs conditions potentiellement perturbatrices ont été identifiées par veille scientifique.
Les études ont été menées sur la plateforme robotique ambr250® (Sartorius). Les cultures ont été caractérisées avec un suivi de viabilité (cytométrie en flux), un dosage de métabolites et un bilan carbone. Les antigènes vaccinaux ont été dosés par ELISA multiplexe (MSD U-plex) et analysés qualitativement en Western Blot.

Identification of reference and disruptive conditions for vaccine bacterial antigen production on a scale-down model of industrial production process.

Sanofi-Pasteur, vaccines division of Sanofi, has 21 vaccines against viral diseases (polio, rage, measles …) and bacterial diseases (diphtheria, tetanus, whooping cough …) in its portfolio.
Some vaccine manufacturing processes are old and the knowledge related to these processes, especially upstream, is limited. Variations in culture parameters might induce a modification of vaccine antigens production. Understanding of metabolism and bacterial physiology is therefore critical to improve industrial processes linked knowledge.
The study focuses on the industrial culture of a pathogenic bacterium whose antigens are included in several Sanofi Pasteur vaccines. The first goal of this study was to identify reference fermentation conditions. These conditions must allow biomass and antigens production profiles close to production profiles. The second goal of this study was to identify disruptive fermentation conditions regarding vaccine antigen production. Several potentially disruptive conditions have been identified by scientific watch. Studies have been carried out on the robotic platform ambr250® (Sartorius). Cultures have been characterized with viability monitoring (flow cytometry), metabolite assay and carbon balance. Vaccine antigens have been assayed by multiplex ELISA (MSD U-plex) and qualitatively analyzed by Western Blot.

Audrey GUILAIN

3A-classique

SANOFI

MARCY L'ÉTOILE ● France

05/03/2018⟶31/08/2018

Maître(s) de stage / Supervisor(s) : ***Grégory NEVEU***

Optimisation des méthodes de culture d'hépatocytes primaires murins et de détection du virus de l'hépatite B par microscopie à des fins de criblage de molécules antivirales.

Causée par une infection virale des cellules hépatiques, l'hépatite B chronique (HBC) reste à l'heure actuelle une des causes majeures de cirrhose et de carcinome hépatocellulaire. Deux types de traitements sont présents sur le marché : l'interféron alpha et les analogues de nucléos(t)ides (NUC), mais aucun d'eux n'est capable de supprimer totalement le virus des cellules chez une majorité de patients.
L'objectif du projet dans lequel s'insère mon stage est de trouver de nouvelles molécules candidates pour un traitement de l'HBC En effet, un crible à haut-débit effectué à Evotec Toulouse sur des hépatocytes primaires humains (PHH) infectés a permis d'identifier une centaine de molécules montrant une inhibition de la réplication du virus de l'hépatite B (VHB). Cependant, les méthodes de détection acides nucléiques viraux et les modèles animaux pour l'étude du VHB restent rudimentaires et ne permettent pas d'étudier les molécules d'intérêt identifiées dans les meilleures conditions. C'est pourquoi, dans le cadre de ce projet, mon stage s'est tout d'abord axé sur le développement d'une méthode de détection visuelle du virus (en ciblant la protéine de capside HBc et l'ARN prégénomique ARNpg) dans les cellules infectées afin de l'intégrer aux contrôles de routine. Pour cela, des marquages d'immunofluorescence et la technologie Affymétrix (sonde fluorescente qui se fixe à l'ARN) ont été utilisés pour détecter les différentes parties du virus. Puis, dans un second temps, un modèle de culture in vitro d'hépatocytes primaires de souris (PMH) a été mis en place, sur la base de ce qui est déjà fait avec les PHHs.
Les marquages de fluorescence réalisés ont permis de visualiser l'ARNpg dans les hépatocytes, cependant l'anticorps utilisé pour marquer la protéine HBc s'est révélé non spécifique.
Trois modèles de PMH différents ont été développés. A l'heure actuelle, aucun ne permet de conserver des cellules en culture au-delà d'une semaine et des améliorations devront être apportées pour améliorer la viabilité des cellules.

Optimization of methods for the culture of primary murine hepatocytes and for the detection of Hepatitis B virus by microscopy for the screening of antiviral molecule.

Due to viral infection of hepatic cells, chronic Hepatitis B (CHB) is still a major cause of cirrhosis and hepatocellular carcinoma. There are currently two types of treatments available – interferon alpha and nucleos(t)ide analogue (NUC) – nevertheless, none of them can achieve viral suppression in a majority of patients.
The aim of the project I am part of is to find new candidate molecules for CHB cure. Indeed, a high-throughput screen performed at Evotec Toulouse on infected primary human hepatocytes (PHH) identified a hundred molecules showing inhibition of hepatitis B virus (HBV) replication. However, viral nucleic acids detection methods and animal models for HBV study remain basics and do not allow to study the molecules of interest identified under the best conditions. For these reasons, within the framework of this project, my internship focused initially on the development of a visual detection method of the virus (targeting HBc capsid protein and pregenomic RNA – pgRNA) in infected cells in order to implement it in the lab. To that end, immunofluorescence staining and Affymetrix technology (fluorescent probe that binds to RNA) were used to detect different parts of the virus. Then, in a second step, an in vitro culture model of primary mouse hepatocytes (PMH) has been developed, based on what is already done with PHHs.
The fluorescence staining allowed visualizing the pgRNA in the hepatocytes; however the antibody used to mark the HBc protein was found to be non-specific.
Three different PMH models have been developed. To date, none of these models allowed cells to be kept in culture beyond one week and improvements will need to be made to increase cell viability.

Romain IMOLA

3A-classique

SARTORIUS STEDIM BIOTECH SA

AUBAGNE ● France

Maître(s) de stage / Supervisor(s) : ***Cédric GENTILE***

12/03/2018→06/09/2018

Technologies à usage unique, scale-down et cryoconcentration : parcours à travers les challenges liés au stockage et transport congelé de drug substance.

Pendant mon stage j'ai parcouru les challenges liés au stockage et au transport congelé de drug substance à travers l'utilisation des produits de la gamme Celsius®. Celsius® est le leader mondial des technologies de congélation et décongélation pour les bioprocédés et fournit à l'industrie biopharmaceutique des solutions sures, fiables et flexibles pour la gestion de drug substance à l'état congelé.

Les matériaux plastiques qui sont utilisés dans les technologies à usage unique peuvent se fragiliser lorsqu'ils sont soumis à des basses températures. Cela requiert par conséquent des tests de qualification approfondis pour valider leur utilisation dans de telles conditions. Dans ce contexte j'ai participé à l'extension du programme de validation de la gamme Celsius® et j'ai conduit le projet destiné à valider une nouvelle fonctionnalité qui permet la déconnexion aseptique sur des poches à usage unique de la gamme Celsius®.

La cryoconcentration (phénomène de concentration des molécules provoqué par le processus de congélation) et plus généralement les effets de la congélation et de la décongélation sur les protéines posent un réel problème au niveau industriel et nécessitent d'être évalué à petite échelle. Ainsi j'ai développé des modèles de procédés de congélation et décongélation à l'échelle laboratoire permettant de reproduire les paramètres critiques des procédés obtenus à l'échelle industrielle quand différents types d'équipement sont utilisés pour la congélation et la décongélation. Ce travail offre un moyen d'examiner le comportement de drug substance à l'échelle laboratoire comme si les procédés de congélation et décongélation étaient subis à l'échelle production avec les produits Celsius® FFT | FFTp selon différents scénarii.

Enfin, toutes ces activités ont été exploitées et valorisées pour être disponible pour des employés de l'entreprise ainsi que pour les clients de Sartorius Stedim Biotech, sous la forme de documents marketing. Ainsi le guide de validation de la gamme Celsius® a été mis à jour, une note d'application a été créée et un position statement a été établi à partir d'une revue de la littérature.

Single-use technologies, scale-down and cryoconcentration : a journey into drug substance frozen storage and shipping

During my internship, I have explored some of the challenges related to the frozen storage and shipping of bulk drug substances through the use of Celsius® products. Celsius® is the innovation leader in freeze and thaw single-use technologies for bioprocessing and offers to the biopharmaceutical industry safe, reliable and adaptive solutions for successful frozen drug substance transfers.
Plastic materials used in single-use technologies can become more fragile at low temperatures and thus requires extensive qualification tests to demonstrate suitability for use. In this context I participated to the extension of the Celsius® validation program and conducted the project required to validate a new functionality to perform aseptic disconnection on Celsius® single-use bags.
Cryoconcentration (phenomenon that makes molecules concentrate upon cooling) and the effects of freezing and thawing on proteins in bulk drug substance are of major concern for the industry and needs to be carefully evaluated at small-scale. In this way I developed laboratory-scale models of freeze-thaw processes matching the critical parameters obtained at production scale when using conventional freeze and thaw methods and plate freezers. This work provides a way to investigate the behavior of drug substance at lab-scale as if it would be frozen and thawed at production-scale in Celsius® FFT | FFTp with different scenarios.

Finally, all these activities are leveraged to be available for Sartorius Stedim Biotech employees and their customers, documented into new marketing materials through the update of the Celsius® Validation Guide, the creation of an Application Note and a Position Statement based on a literature review.

Pauline JOUVE

3A-classique

UCB PHARMA

BRAINE L'ALLEUD ● Belgique

Maître(s) de stage / Supervisor(s) : ***Jonathan STERN***

01/03/2018→31/08/2018

Optimisation et automatisation de la méthode d'analyse des glycans.

Depuis la commercialisation du premier anticorps monoclonal en 1986, cette classe de produits biopharmaceutique est en pleine expansion. En Mars 2017, la FDA a approuvé environ 60 mAbs thérapeutiques.
Les attentes de la FDA en terme de qualité ne cessent d'augmenter afin de protéger les patients de potentiels effets secondaires causés par les médicaments tels que les infections ou encore par les maladies auto-immunes induites par les traitements. Pour répondre aux attentes de la FDA, la stratégie de Quality by Design (QbD), une stratégie de développement des process, est désormais appliquée par la majorité des industries pharmaceutiques. Cette approche vise à comprendre et contrôler tous les aspects du processus de fabrication liés aux attributs de qualité d'un produit pharmaceutique. En effet, le processus de culture cellulaire peut avoir un impact sur la qualité du produit et notamment sur les modifications post-traductionnelles tels que la désamidation, la phosphorylation ou encore la glycosylation. Toutes ces modifications peuvent impacter l'efficacité du produit. La glycosylation est une modification post-traductionnelle courante impliquant la fixation d'oligosaccharides au squelette polypeptidique d'une protéine. Il s'agit d'un des attributs de qualité les plus critiques qui doit être sérieusement caractérisé et contrôlé car il peut affecter la pharmacocinétique, pharmacodynamique et l'immunogénicité d'une protéine thérapeutique. Il existe de nombreuses approches analytiques pour l'étude des glycans. L'une d'entre elles se base sur la libération des glycans par digestion enzymatique suivi d'un marquage par amination réductrice et enfin d'une séparation par chromatographie d'interaction hydrophile (HILIC) avec détection en fluorescence. Toutefois, ces méthodes sont très longues pouvant prendre jusqu'à trois jours pour la préparation des échantillons. Les récentes avancées ont conduit au développement de nouveaux kits plus rapides et plus pratiques pour les analyses de routine.
L'objectif de mon stage a été d'optimiser et d'automatiser la méthode d'analyse des glycans avec ce nouveau kit dans le but de réduire le temps d'analyse et de pouvoir ainsi l'implémenter en tant qu'analyse de routine.

Optimization and automation of a glycan profiling method.

Since the commercialization of the first therapeutic monoclonal antibody product in 1986, this class of biopharmaceutical products has grown significantly. In March 2017, FDA approved approximately 60 therapeutic mAbs.
FDA quality expectations are always growing to protect patients from potential side effects caused by the drug such as infections or autoimmune disease. To answer FDA requirements, process development strategy called Quality by Design (QdD) is now used by most pharmaceutical industries. This approach aims to fully understand and control aspects of the manufacturing process as they relate to critical quality attributes of a drug product. The cell culture process might impact product quality through post translational modifications such as deamidation, phosphorylation or glycosylation which can impact product efficacy and safety. Glycosylation is a common post-translational modification involving attachment of oligosaccharides to the polypeptide backbone of a protein. This is one of the most critical quality attribute that must be carefully characterised and monitored because it can affect pharmacokinetics, pharmacodynamics and immunogenicity of a therapeutic protein. One of many analytical approaches for glycan analysis is glycans release by enzymatic digestion, reductive amination labelling and separation by hydrophilic interaction chromatography (HILIC) with fluorescence detection. However, those methods are very time consuming and take up to three days for sample preparation. Recent advances have led to the development of new kits faster and more adapted for routine analysis.
The aim of my internship was to optimise and automatise the analysis of glycans profiling method with this new kit in order to reduce analysis time and implement it as a routine analysis.

Léa LAUGA

3A-CPRO

MERCK BIODEVELOPMENT

MARTILLAC ● France

Maître(s) de stage / Supervisor(s) : ***Flavien THUET***

09/10/2017→28/09/2018

Etude et implémentation d'un système de culture cellulaire à haut débit.

Pour être compétitives sur le marché des biotechnologies, les entreprises pharmaceutiques se doivent de développer rapidement leurs procédés. Dans ce but, Merck life science est en constante recherche d'amélioration de son service de recherche et développement notamment en investissant dans des équipements innovants. Mon contrat de professionnalisation s'inscrit dans cette optique par l'implémentation d'une technologie de culture cellulaire à haut débit en bioréacteurs à usage unique.
Cet appareil permet la culture de 12 bioréacteurs en parallèles, dans un volume de travail maximum de 250mL. Actuellement, la majeure partie des procédés sont développés en bioréacteur 3L puis 200L pour enfin être amenés à l'échelle de production en 2000L. Ce transfert d'échelle est basé sur des paramètres critiques tel que la vitesse d'agitation et l'oxygénation. Afin de définir les conditions optimales d'utilisation, l'étude de la technologie a été réalisée en testant différentes stratégies appuyées sur ces paramètres. L'objectif étant de déterminer le potentiel de l'équipement en tant que modèle de référence pour permettre à terme d'utiliser cet outil pour le développement des procédés, permettant de doubler le nombre de tests par « round » de développement permettant ainsi de tester plus de paramètres tout en facilitant le travail de l'opérateur et en réduisant considérablement la quantité des matières premières à utiliser. Pour ce faire, la connaissance et l'identification des limites du système sont indispensables. Une fois l'étude réalisée, la formation et la transmission des informations à l'équipe chargée des procédés « up-stream » a été réalisée afin que l'équipement puisse être utilisé comme matériel de développement pour des projets clients.

Development and purification of recombinant proteins for therapeutic application.

To be competitive in the biotechnology market, pharmaceutical companies have to develop their processes rapidly. To this aim, Merck Life Science is continuously improving its research and development department, particularly by investing in innovative equipment. My professionalization contract is part of this approach by implementing a high throughput cell culture system of single-use microbioreactors.
This device allows the cultivation of 12 bioreactors in parallel, in a maximum working volume of 250mL. Currently, most of the processes are developed in 3L and then in 200L bioreactors to finally be transferred to the production scale in 2000L bioreactor. This scale transfer is based on critical parameters such as agitation speed and oxygenation. In order to define the optimal conditions of use, the study of the technology was carried out by testing different strategies based on these parameters. The objective is to determine the potential of the system as a reference model to be able to use this tool for the development of processes, allowing to double the number of tests performed during development round to assess more parameters while facilitating the work of the operator and by significantly reducing raw materials. To do this, knowledge and identification of system boundaries are essential. Once the study was completed, the training and the transmission of information to the "up-stream" process team was fulfilled thereby the equipment could be used as development material for customer projects.

Marie LE LAMER

3A-GEM

IPSEN BU Biotech

BOULOGNE-BILLANCOURT ● France

Maître(s) de stage / Supervisor(s) : ***Izarn ILTIS***

Elaboration et mise en place du plan marketing pour commercialisation du Décapeptyl®.

IPSEN Pharma est un groupe international biotechnologique focalisé sur l'innovation en médecine de spécialité dans trois domaines thérapeutiques ciblés – l'oncologie, les neurosciences et les maladies rares - et bénéficie également d'une présence significative en médecine générale.
Décapeptyl® est un analogue de l'hormone GnRH naturelle indiquée dans un premier temps dans le traitement du cancer de la prostate en 1986, aujourd'hui il est également utilisé dans le traitement du cancer du sein, de l'endométriose et de la puberté précoce. Les activités de chef de produit sont multiples et donnent lieu à des échanges variés avec des interlocuteurs internes très différents (affaires règlementaires, affaires médicales, directeur de zone, visiteurs médicaux, agences de communication, finance, market access …) ainsi qu'avec des interlocuteurs externes (Professionnels de santé, agences de communication…).
Mes missions sont de participer à l'élaboration et la mise en place du plan marketing stratégique et opérationnel, de développer des campagnes promotionnelles et environnement, de participer à l'organisation des séminaires avec la force de vente, ainsi que de coordonner des congrès.

Elaboration and implementation of the marketing plan to commercialize Décapeptyl ®.

IPSEN Pharma is a global biotechnological company focused on innovation in specialty care in three therapeutic areas – oncology, neurosciences and rare diseases – and also has a significant presence in primary care.
Decapeptyl® is an analogue of natural GnRH hormone, launched in 1986, and indicated for the treatment of prostate cancer, breast cancer, endometriosis, and precocious puberty.
The product manager's activities are multiple and give rise to exchanges with very different internal representatives (regulatory affairs, medical affairs, sales representatives director, sales representatives, communication agency, finance, market access, …) and external representatives (health professionals, communication agencies…).
My tasks are to participate in the development and implementation of strategic and operational marketing plan, to develop promotional and environmental campaigns, to participate in the organization of seminars with the sales representatives and to coordinate congresses.

Charlotte LEBRUN

3A-GEM

SANOFI WINTHROP INDUSTRIE

GENTILLY ● France

Maître(s) de stage / Supervisor(s) : ***Cyrille SIDAWY***

Focal point - Sourcing Stratégique pour les produits matures et les génériques – Franchise Médecine Générale-Affaires Industrielles.

Le procédé de sourcing consiste en une allocation de production qui entraine la création ou le changement d'un flux existant. Cela inclut tous les transferts d'usine en usine, les lancements de produits (extensions de territoires, lancement de nouveau produit provenant de la R&D, le life-cycle management), les changements de packaging, les requêtes d'optimisation des coûts de production, les opportunités avec des sous-traitants et tout autre cas spécial.
En tant que Focal Point, mon rôle a été d'identifier et d'évaluer les stratégies d'optimisation de production pour le portefeuille produit actuel et futur de l'unité Médecine Générale et Marchés Emergents, à travers le réseau de sites industriels de Sanofi (périmètre de 32 usines). Cela représente environ 350 cas par an.
Après avoir reçu une requête de la part du marché, des opérations commerciales, du Business ou autre, je devais dans un premier temps vérifier qu'elle était bien conforme à la stratégie de notre Business Unit. Si tel était le cas, l'étape suivante consistait à sélectionner le(s) site(s) potentiellement à même de répondre à la requête et de leur demander une évaluation technique et financière, basée sur des prévisions de volumes et de chiffres d'affaires.
Après avoir reçu toutes les données nécessaires de la part des sites pour évaluer la faisabilité de la requête, je devais vérifier avec l'équipe du réglementaire et les contrôleurs financiers que tous les points avaient bien été abordés et que notre proposition concordait avec la demande initiale.
Enfin, la dernière étape consistait à présenter le cas lors d'un Sourcing Committee où la décision finale était prise.
En plus du travail de suivi des cas de sourcing, ma mission consistait également à mettre en place et à suivre des indicateurs de performances en lien avec le sourcing ainsi qu'à former les utilisateurs sur ce processus.

Strategic Sourcing Focal Point for Established Products and Generics – General Medicine Franchise-Industrial Affairs.

Sourcing consists in production allocation resulting in permanent flow change or creation. This includes all products transfers, any product launch whatever its type (territory extensions, launch of new medical entities from R&D or in-licensed products, life-cycle management, etc.), any contract manufacturing opportunity and other special cases.
As a sourcing focal point, my role was to identify and evaluate overall production optimization strategy for the existing and future General Medicine and Emerging Markets products portfolio across Sanofi industrial network (32 sites perimeter). This represents around 350 cases per year.
After receiving the request from the market, the Commercial Operation or from the Business, I had to check if it was in line with the Business Unit strategy. If yes, next step was to select the potential site candidates and ask them for a technical evaluation based on volumes and turnovers forecasts. After having received the site(s)' proposal and having checked with the regulatory and financial teams that every point has been taken into account and that our proposal matches the requestor's expectations, final step was to present the cases during a sourcing committee where the final decision was taken.
In addition to the work of monitoring sourcing cases, my mission was also to set up and monitor key performance indicators related to sourcing and to train users on this process.

Clémence MAVEL-BAUDU

3A-EA

ARBOR VITA Corporation

FREMONT ● Etats-Unis

Maître(s) de stage / Supervisor(s) : ***Michael BELMARES***

16/02/2018→16/08/2018

OncoE6™ Cervical Test : développement de produit, fabrication et assurance qualité.

Le cancer du col de l'utérus est le second cancer le plus fréquent chez la femme dans le monde. Près de 500 000 nouveaux cas et 250 000 à 300 000 morts sont recensés chaque année d'après l'institut Pasteur. Ce type de cancer est associé dans 99% des cas à une infection par un papillomavirus (HPV). Cependant, la majorité des infections HPV est éliminée par le système immunitaire et ne progresse donc pas en cancer. A ce jour, les tests de dépistage existant sur le marché permettent de révéler la présence d'une infection HPV et non pas des lésions cancéreuses. L'OncoE6TM Cervical Test développé par Arbor Vita, permet de détecter de fort taux d'oncoprotéine E6, un marqueur spécifique du cancer du col de l'utérus. L'oncoprotéine E6, produite par les cellules du col lorsque le virus HPV est intégré au génome, permet de détecter la présence de lésions pré cancéreuses et cancéreuses car cette protéine est connue pour être impliquée dans la tumorogenese. En travaillant au sein de l'équipe de développement de produit, j'ai réalisé des études sur différents composants du test afin de réduire les coûts et d'optimiser les temps de production tout en s'assurant du maintient de la performance du test. Lors de mon stage j'ai aussi travaillé au sein du département assurance qualité. La production de l'OncoE6™ Cervical Test est certifié ISO13485:2003 et CE, aux regards des procédures qualité j'ai notamment été affecté a l'évaluation, la révision et l'approbation des rapports de production, ainsi qu'au contrôle des documents. Enfin, j'ai été impliquée dans la recherche, l'achat et l'envoi d'équipement pour une entreprise étrangère liée a Arbor Vita par un contrat de type « joint venture ».

OncoE6™ Cervical Test: Product development, manufacturing and quality assurance.

Cervical cancer is the second most frequent women cancer worldwide. Every year, according to the Pasteur Institute, there are 500 000 new cases and 250 000 to 300 000 women die of the disease. Cervical cancer is 99%, associated with a Human Papillomavirus (HPV). However, most HPV infections are cleared by the immune system, and do not lead to cervical cancer. While HPV tests currently on the market reveal the presence of the virus (detection of infection) which can lead to medical overtreatment, the OncoE6TM Cervical Test detects E6 oncoproteins which are a specific marker of disease. Because the E6 oncoprotein is known to be involved in tumogenesis; the detection of the E6 oncoproteins reveals the presence of cervical pre-cancerous or cancerous lesions and is highly predictive of cervical disease. As a part of the product development team, I performed some studies with various components of the OncoE6TM Cervical Test to reduce the cost of the test, and suitability for manufacturing automation, while maintaining its performance. During my internship I was also involved in Quality Assurance activities related to the OncoE6TM Cervical Test CE marked product. As part of my work, I was trained in the Quality Procedures compliant with ISO13485:2003, and performed various functions in this area, including but not limited to document review, lot number assignment, document control, and product conformity & release. Finally, in my internship, I also obtained practical experience in the investigation and purchasing of manufacturing equipment for a joint venture between Arbor Vita and a foreign manufacturing company.

Adrien MILCENT

3A-classique

OLMIX SA

BREHAN ● France

Maître(s) de stage / Supervisor(s) : ***Maxime CAVAREC***

05/03/2018→31/08/2018

Mise en place et suivi d'essais d'extraction mécanique.

La société Olmix développe des solutions alternatives aux produits chimiques utilisés en agriculture et en agroalimentaire. Olmix utilise trois matières premières : de l'argile, des oligo-éléments et des macroalgues. Les algues sont des ressources renouvelables riches en nutriments et aux propriétés antioxydantes, antivirales ou encore immunomodulatrices intéressantes pour des applications de nutrition/santé animale, végétale et humaine. Actuellement le procédé d'extraction fait principalement intervenir des étapes mécaniques de transformation et de séparation de phase. L'extraction fait l'objet d'un intérêt particulier de la part du service R&D en vue d'améliorer les rendements de production. Le projet E-MAX sur lequel je travaille s'articule autour de cette problématique.

Le but de ce stage est de prospecter et de tester des technologies et des équipements d'intérêt qui sont susceptibles de favoriser l'extraction, la séparation et/ou la purification des composés actifs des macroalgues. Nous cherchons des pistes pour d'une part optimiser notre process et d'autre part pour accumuler de la connaissance sur nos matières. Pour cela nous pouvons faire appel à des prestations externes, à des locations de matériels ou développer des solutions in situ. Les technologies doivent cependant être mécaniques et éviter l'utilisation de solvant pour rester conformes avec la volonté de l'entreprise. En parallèle au projet E-MAX, nous avons également des missions liées au fonctionnement de la Halle Pilote. Nous assurons la production de produit semi-fini ou fini en quantité suffisante pour des essais terrains, laboratoires ou encore des analyses. Nous optimisons des process validés à l'échelle laboratoire avant de les expérimenter en production. Nous sommes aussi sollicités en scale-down, lorsqu'un souci est rencontré en production nous pouvons proposer des solutions et des optimisations.

Implementation and follow-up of mechanical extraction tests.

Olmix Company develops alternative solutions to chemical products use in agriculture and food industry. Olmix uses three kinds of raw materials: clay, trace element and seaweed. Seaweeds are highly renewable, and a good source of nutrients and compounds with antioxidant, antiviral or immunomodulatory properties that can be used for plant, animal and human nutrition and health. Currently the extraction process is mainly performed with mechanical steps of transformation and phase separation. The R&D department has a focus on extraction processes with the aim of increasing the production yield. E-MAX project, on which I am working, is articulated around this problematic.

The goal of this internship is to prospect and to test technologies and devices which might improve extraction, separation and/or purification of seaweeds active compounds. Different ways are explored to optimize the process and, moreover, to collect knowledge on the used materials. In this context, we resort to external technical services, material rental or purchase and in situ solution design. The technologies must be mechanical and free of solvent to be in line with the company policy. In addition to E-MAX project, we also have tasks concerning the pilot hall. We produce semi-finished or finished products for field trials, laboratory trials or analyses. We optimize processes which are validated at the laboratory scale before challenging it on the production line. We are also solicited for scale-down trials, to help overcoming issues encountered at the production level or to optimize some processes.

Marine MORCILLO

3A-classique

BIOTRIAL RESEARCH

RENNES ● France

01/03/2018⟶31/08/2018

Maître(s) de stage / Supervisor(s) : ***Viviane GUERMONT***

Gestion des audits process et validation des systèmes informatisés.

L'Assurance Qualité est un service qui se doit d'être indépendant du reste d'une entreprise. Elle est garante de la qualité des prestations et des services que propose celle-ci. Dans le cas précis d'une C.R.O. (Contract Research Organization) comme Biotrial, ce service permet la mise en place de process ayant pour base la réglementation, pour au final assurer la sécurité des volontaires sains, des patients, des animaux dans le cadre des études ainsi que des employés en charge de celles-ci. Le respect de tous ces process permet également d'assurer la fiabilité des résultats pouvant impacter la décision de mise sur le marché de médicaments ou de dispositifs médicaux.
Les audits internes sont un des moyens mis en place pour vérifier et garantir cette qualité. Les process doivent donc être régulièrement audités afin de contrôler le respect des SOP (Standardized Operational Procedures) et des MO (Modes Opératoires) de l'entreprise, qui eux même reprennent la réglementation (BPL (Bonnes Pratiques de Laboratoires), BPC (Bonnes Pratiques cliniques), BPF (Bonnes pratiques de Fabrication), RGPD (Règlement Général sur la Protection des Données), etc.). La planification des audits est basée sur une analyse de risques. Une partie de mon projet a porté sur la participation à différents audits dans le domaine clinique et non clinique. A l'issue de chaque audit, un rapport est rédigé. Il contient les écarts et remarques constatés au cours de l'audit ainsi que les actions correctives et préventives définies à partir de ces observations. Ces actions sont ensuite mises dans un plan d'action, le CAPA (Corrective Action Preventive Action) jusqu'à leurs clôtures.
De plus, à Biotrial, l'unité Assurance Qualité prend en charge la validation des systèmes informatisés. Les études menées par Biotrial ainsi que le fonctionnement interne de l'entreprise nécessitent l'utilisation de bon nombre d'applications informatiques, qui seront validées ou non selon leur impact. J'ai réalisé la validation d'un système informatisé selon un déroulement précis. Une analyse de risques a été rédigé, les tests de validation (tests d'installation, tests opérationnels et tests en production) ont ensuite été définis, puis ces tests ont été exécutés. C'est la validation qui garantit ainsi la fiabilité de l'application.

Procedural audits management and computerised systems validation.

Quality Assurance is an independent department of Biotrial, a Contract Research Organisation (CRO) that guarantees the quality of provided services and enables the implementation of regulatory processes. Quality Assurance's ultimate goal is to ensure the safety of healthy volunteers, patients, study animals, and employees. The respect of processes implemented by the Quality Assurance department facilitates the trustworthiness of results, which can impact the decision to put drugs or medical devices on the market. Internal audits are one of the ways to verify and guarantee this quality. Processes have to be regularly audited in order to control the respect of the company's SOPs (Standardised Operational Procedures) and WIs (Work Instructions), which are in accordance with regulations including GLP (Good Laboratory Practice), GCP (Good Clinical Practice), GMP (Good Manufacturing Practice), GDPR (General Data Protection Regulation), etc. The scheduling of audits is based on a risk-based analysis. One part of my project focuses on the participation in different clinical and non-clinical audits. A report containing findings observed during the audit and corrective and preventive actions defined from these findings is written after each audit. Then, these actions are put into an action plan called the CAPA (Corrective Action Preventive Action) until their closing.
Furthermore, Biotrial's Quality Assurance department is in charge of the validation of computerised systems. Studies managed by Biotrial in addition to the internal functioning of the company require several computerised systems which are validated or not according to their impact. I have carried out the validation of a computerised system according to a specific process. Firstly, a risk-based analysis was written. Then, validity tests (e.g. installation tests, operational tests, and tests in production) were defined. Finally, these tests were executed. It is through validation that the trustworthiness of the software is guaranteed.

Marie NOGUER

3A-CBI

TRIFYL

LABESSIERE-CANDEIL ● France

26/03/2018⟶26/09/2018

Maître(s) de stage / Supervisor(s) : ***Florian PAILLET***

Optimisation d'un bioprocédé pilote pour la production d'hydrogène à partir d'ordures ménagères.

L'épuisement progressif des sources d'énergies fossiles et les émissions de gaz à effets de serre liés à leur utilisation conduit au développement de moyens de production d'énergie plus durables et moins impactants pour l'environnement. Parmi les alternatives, l'utilisation de l'hydrogène comme source d'énergie suscite un intérêt grandissant. Le 1er juin 2018, le ministre de la Transition écologique et solidaire mobilisait alors 100 millions d'euros en faveur du développement de la filière hydrogène. A ce jour, l'hydrogène est majoritairement produit par reformage de combustibles fossiles très énergivore, ce qui génère d'importantes émissions de gaz à effet de serre (GES). Néanmoins, de nouveaux moyens de production d'hydrogène plus respectueux de l'environnement, notamment par voie biologique, sont devenus des axes de recherches à forts intérêts. Dans ce contexte, la fermentation microbienne est un de ces procédés qui consiste à convertir la fraction organique d'ordures ménagères en hydrogène (H2), CO2 et en sous-produits métaboliques (AGVs). L'avantage de ce procédé est qu'il s'intègre parfaitement dans les filières actuelles de méthanisation des déchets. En effet, suite à la fermentation, les résidus constitués de matières organiques pré-dégradées peuvent être valorisés par digestion anaérobie pour produire du méthane. Ainsi Trifyl, établissement spécialiste du traitement des déchets, développe depuis 2014 un procédé à deux étapes de production d'un mélange H2/CH4 à partir d'ordures ménagères. L'objectif du stage porte sur l'optimisation du procédé de production d'hydrogène par voie biologique (fermentation sombre) à partir de biodéchets reconstitués. En effet, le procédé passera à l'échelle pilote en 2020 et ce scale-up nécessite un contrôle et une compréhension optimaux du procédé. Plus spécifiquement, la problématique principale est de limiter l'inhibition de la production d'H2 causée par la sursaturation du milieu fermentaire en H2. Pour répondre à l'objectif, une première partie consiste à étudier l'impact du dimensionnement du réacteur de fermentation sur la production d'H2. Dans une seconde partie, le potentiel de méthanisation du fermentat (résidus solides prédigérés issus du réacteur de fermentation) est évalué pour déterminer le gain énergétique total du couplage de procédés.

Optimization of a pilot bioprocess for the production of hydrogen from household waste.

The current depletion of fossil fuel sources and the greenhouse gas emissions associated with their use has recently led to the development of new technologies for producing more sustainable energy with less impact on the environment. Among the possible alternatives, the use of hydrogen as a source of energy has gained in scientific and societal interests. On June 1, 2018, the Minister of the Ecological and Solidarity Transition mobilized 100 million euros for the development of the hydrogen sector. At this time, hydrogen is mainly produced by reforming fossil fuels, which generates significant greenhouse gas (GHG) emissions. New ways for producing "green" hydrogen, including biologically, remain to be explored. In this context, microbial fermentation is an effective way to convert the organic fraction of household waste into hydrogen (H2), CO2 and metabolic products for industrial purposes (VFAs). These processes fit perfectly into the current waste treatment streams by anaerobic digestion. Indeed, the fermentation residues can be further treated by anaerobic digestion to produce methane.
Thus, Trifyl, a waste treatment facility, has been developing a two-stage process for producing a H2 / CH4 mixture from the household waste since 2014. The aim of the internship is to optimize the bioproduction of hydrogen through dark fermentation from reconstituted bio-waste. Indeed, the process will be scaled up in 2020 and this scale-up requires optimal control and understanding of the process. More specifically, the main problem is to limit the inhibition of H2 production caused by the supersaturation of the fermentation medium in H2. To answer the objective, a first part consists in studying the impact of the sizing of the fermentation reactor on the production of H2. In a second part, the methanogenic potential of the fermentate (predigested residues from the fermentation reactor) is evaluated to determine the total energy gain of such two-step process.

Aurélien PARSY

3A-CBI

TOTAL SA

LACQ ● France

Maître(s) de stage / Supervisor(s) : ***Cécilia SAMBUSITI***

03/04/2018→28/09/2018

Développement de procédés de production et valorisation des microalgues.

Après la COP21 à Paris, le monde s'est engagé à réduire la température moyenne mondiale de 2°C d'ici à 2100 par rapport aux niveaux préindustriels. Le programme de captage, d'utilisation et de stockage du carbone (CCUS) promu par TOTAL est une solution permettant d'atténuer les changements climatiques ainsi que d'assurer la production d'énergie renouvelable. Dans le cadre de ce programme de recherche, les microalgues sont étudiées pour leur capacité à convertir le CO2 atmosphérique en biomasse et en molécules qui peuvent être énergétiquement valorisées. Les microalgues ont récemment obtenu un gain d'intérêt par rapport aux plantes terrestres en raison de leur taux de croissance plus élevé, de leur efficacité photosynthétique et de leur capacité à stocker de grandes quantités de lipides et de glucides, sources d'énergie et de produits d'intérêts. La chaîne de production et de valorisation des microalgues comprend des étapes de culture et de récolte. Le processus de récolte est en fait une étape coûteuse dans la chaîne de production (la récolte/déshydratation des microalgues représente jusqu'à 50% de la consommation énergétique d'une chaîne de production de biocarburants et 15-20% du coût total de l'investissement).
Ainsi, les objectifs du stage étaient le développement de protocoles de culture pour la production de microalgues à la fois en laboratoire et à l'échelle pilote et l'optimisation de l'étape de récolte des microalgues à l'échelle du laboratoire. Parallèlement à ces missions, la politique Hygiène, Sécurité et Environnement de l'entreprise devait être respecté en rédigeant les divers documents nécessaires à la mise en place des méthodes et technologies utilisées durant l'étude.

Development of production processes and valorization of microalgae.

After COP21 in Paris, the world committed to limit the increase in global average temperature to below 2°C by 2100 compared to pre-industrial levels. In order to minimize its environmental footprint, the Carbon Capture, Utilization and Storage (CCUS) program promoted by TOTAL is a solution to mitigate climate change together with energy efficiency and renewable energy production. Within this research program, microalgae are investigated for their capacity to convert atmospheric CO2 for producing molecules and biomass which can be energetically valorized. Microalgae have a recent gain of interest compared to terrestrial crops because of their higher growth rate, their photosynthetic efficiency and their capacity to stock a large quantity of lipids and carbohydrates, sources of energy and products. Microalgae production and valorization chain includes cultivation and harvesting steps. The harvesting process is actually an expensive stage in the production chain (harvesting/dewatering of microalgae represents up to 50% of the energy consumption of a biofuel production chain and 15-20% of total investment cost).
Thus, the specific objectives of the internship were the development of culture protocols for microalgae production at both laboratory and pilot scale and the optimization of the microalgae harvesting step at laboratory scale. In parallel of these missions, Health, Safety and Environment policy of the company have to be respected by writing the documents required to implement the various methods and technologies used during the study.

Antoine PIEDNOIR

3A-classique

GIVAUDAN France

Argenteuil ● France

Maître(s) de stage / Supervisor(s) : ***Arnaud GUILLERET***

01/03/2018→31/08/2018

Optimiser la production d'un biosurfactants par Candida bombicola.

Les tensioactifs sont des molécules amphiphiles qui peuvent offrir de nombreuses propriétés. Ils réduisent les tensions superficielles et interfaciales entre diverses molécules. Cette caractéristique permet d'augmenter la solubilité des molé- cules dans un milieu. Les tensioactifs sont utilisés dans les émulsifiants, les solubilisants et les détergents.
Cependant, le prix des matières premières pour ces composés chimiques, parfois toxiques, sont en hausse. De plus, les consomma teurs et les gouvernements recherchent d'avantage des produits naturels et respectueux de l'environne- ment. Cette tendance développe de nouvelles perspectives, comme l'utilisation de tensioactif d'origine naturelle. Produits par des microorganismes, les biosurfactants présentent des caractéristiques comparables aux tensioactifs de synthèse. Des propriétés biologiques prometteuses ont été mise en évidence,notamment avec les biosurfactants de type sophoro- lipides (antibactérien, antioxydant, etc.). La production de sophorolipides a été développée à l'aide de micro-organismes non pathogènes (GRAS). L'innocuité de ces microorganismes rend leurs utilisations particulièrement intéressantes pour des applications alimentaires et pharmaceutiques.
Givaudan produit actuellement des sophorolipides à grande échelle. L'essor des biosurfactants perfectionne les con- naissances vis-à-vis du processus de production tout en améliorant les rendements. Cependant, malgré leurs avantages environnementaux et leurs propriétés prometteuses, les coûts de production restent élevés. Le but de ce projet consiste en l'analyse et l'optimisation du processus de production afin d'améliorer le rapport coût-efficac ité. L'objectif principal est de perfectionner le processus en amont par de multiples approches. Ainsi, la composition du milieu et les conditions de fermentation, sont les principaux paramètres optimisés durant cette étude.

Optimized production of a biosurfactant from Candida bombicola.

Surfactants are amphiphilic molecules which can offer a myriad of properties. They reduce surface and interfacial ten- sions between molecules. This characteristic enhances the solubility of molecules. Surfactants are used in emulsifiers, solubilizers, and detergents. However, prices of raw materials and legislation for this toxic-chemical compound are rising. Consumers and govern- ments are seeking progressively towards natural and eco-friendly products. Biosurfactants, produced by microorganism, shows interesting characteristics which are comparable or even better than synthetic surfactant. This trend developed an expanding niche market which can be exploited. Moreover,biosurfactants (e.g. sophorolipIds) display interesting biologi- cal propertles (e.g. antibacterial, antioxidant, etc.). Production of sophorolipids can be assured by non-pathogenic micro- organisms which are generally recognized as safe (GRAS). Utilization of GRAS microorganisms enables to produce for food and pharmaceutical applications.
Increasing interest has led to improve biotechnological processes and production yields. Givaudan currently produces sophorolipids at large-scale. However,despite their environmental advantages and promising properties, the production costs remain high. The aim of the study was to analyse and optimize the production process to improve its cost- effectiveness. The main focus was first to improve upstream process by multiple approaches. Experiments at pilot scale have been conducted in relation to the medium composition,and fermentation conditions.

Justine PLETENKA

3A-classique

SATT AQUITAINE - Cell3

BORDEAUX ● France

07/03/2018⟶07/09/2018

Maître(s) de stage / Supervisor(s) : ***Maxime FEYEUX***

Production de cellules souches pluripotentes induites (iPS) sur une nouvelle plateforme d'amplification microfluidique.

Les cellules souches pluripotentes sont caractérisées par leur capacité à s'auto-renouveler de manière illimitée et à se différencier en tous les types cellulaires de l'organisme. Elles ouvrent la porte à de nombreuses applications telles que le criblage et le développement de médicaments, la modélisation de maladies, l'ingénierie tissulaire ou la thérapie cellulaire. Cependant, ces applications nécessitent une production de masse de cellules souches pluripotentes de grande qualité, tout particulièrement lorsque l'objectif est thérapeutique.
La technologie développée par TreeFrog Therapeutics permet de produire en masse des cellules souches pluripotentes et des organoïdes dérivés de cellules souches, c'est-à-dire des groupes de cellules organisées qui reproduisent partiellement les fonctions d'un organe. Les objectifs de mon stage étaient dans un premier temps de maîtriser l'utilisation de cette technologie puis d'installer et valider un pilote industriel dans un nouveau laboratoire. Cette seconde partie incluait le choix et l'installation des équipements, la gestion des stocks de consommables et la rédaction de procédures standards. Un autre objectif visait à poursuivre le développement du procédé de production. Dans le cadre de la maturation du projet par Aquitaine Sciences Transfert (SATT Aquitaine), la qualité génétique des cellules amplifiées et cryoconservées doit être contrôlée par un tiers et j'ai été responsable de la collection et du conditionnement d'échantillons.

Production of induced pluripotent stem cells (iPSC) with a new microfluidic expansion platform.

Pluripotent stem cells are characterized by their unlimited capacity to self-renew and by their capacity to differentiate into all cell types of the organism. Thus, they show potential for numerous applications such as drug screening and development, disease modelling, tissue engineering or cell therapy. However, these applications require a large-scale production of high quality pluripotent stem cells, especially for a therapeutic use.
The technology developed by TreeFrog Therapeutics allows to mass-produce stem cells and stem cell derived organoids, i.e self-organized groups of cells that partially reproduce an organ function. First, my internship objectives were to understand the bioproduction technology and to install and control a pilot scale platform in a new laboratory. Then, another objective was to continue the process development. Moreover, the genetic quality of the amplified and cryopreserved cells needs to be verified by an external third party within the framework of the project maturation by Aquitaine Sciences Transfert (SATT Aquitaine). I was responsible for the samples collection and packaging.

Marie POINSIGNON-

3A-classique

SIEMENS INDUSTRY SOFTWARE SAS

TOULOUSE ● France

01/03/2018⟶31/08/2018

Maître(s) de stage / Supervisor(s) : ***ARNAUD LASSALLE***

Développement de librairies eBR avec le logiciel SIMATIC IT eBR.

De nos jours, l'amélioration des procédés de fabrication est au centre des préoccupations afin d'augmenter les performances industrielles. En réponse à cette problématique, SIEMENS propose un logiciel MES (Manufacturing Execution System) appelé SIMATIC IT eBR, destiné aux industries pharmaceutiques et cosmétiques. Au travers de ce logiciel, la modélisation de ces procédés combine des actions manuelles réalisées par les opérateurs et des actions automatiques sur les lignes de production. Cette modélisation est réalisée de la gestion du magasin jusqu'à l'expédition des produits finis. De plus, ce logiciel de suivi de fabrication assure la collecte des données liées à la production en temps réel et génère les dossiers de lots électroniques. Au cours de ce stage, différents procédés biotechnologiques ont été modélisés sous forme de librairies. Celles – ci seront ensuite utilisées par des industries pharmaceutiques pour faciliter le lancement de nouveaux projets de fabrication. Parmi ces procédés étudiés, seul le fractionnement du sang sera présenté.
Les protéines du plasma ont des rôles essentiels dans le transport de molécules, dans la coagulation sanguine ou encore dans le maintien de la pression oncotique. Elles sont aussi impliquées dans le système immunitaire. Parmi ces protéines, certaines ont une utilisation thérapeutique pour compenser certains déficits en protéines plasmatiques. Elles seront utilisées pour produire des médicaments dérivés du sang par le procédé de fractionnement du sang. A partir du sang ou du plasma, l'ensemble des étapes de production de ce procédé ont été modélisées sur le logiciel SIMATIC IT eBR.

Development of eBR libraries with the SIMATIC IT eBR software.

Nowadays, the improvement of manufacturing processes is a key driver to increase industrial performance. To answer this, SIEMENS proposes a MES (Manufacturing Execution Systems) software called SIMATIC IT eBR, dedicated to pharmaceutical and cosmetic industries. With this software, processes modelling combines both manual actions performed by operators and automatic actions on production lines. This design can be achieved from the warehouse management to the finished goods shipping. In addition, this manufacturing monitoring software ensures real – time data collection and generates electronic batch records. During this internship, different biotechnological processes have been designed in the form of libraries, which are used by life sciences industries to facilitate the starting of new projects. Among those libraries, only the blood fractionation process will be presented. Plasma proteins have essential functions in the transportation of molecules, in the blood clotting or in the maintenance of osmotic pressure. They are also involved in the immune system. Among these proteins, some have a therapeutic usage to compensate deficiency on some plasma proteins. They will be used to produce plasma-derived products thanks to a blood fractionation process. Starting from the blood or plasma raw materials, every main manufacturing process steps have been designed with the SIMATIC IT eBR software.

Antoine ROBERT

3A-CPRO

GENZYME LYON

LYON ● France

25/09/2017→26/10/2018

Maître(s) de stage / Supervisor(s) : ***Fanny CATHALA***

Développement et implémentation en production d'une méthode de mesure de la viabilité et de la concentration cellulaire des suspensions thymocytaires par cytométrie d'image en fluorescence.

Sanofi-Genzyme produit à Lyon Thymoglobulin®, un médicament indiqué dans la prévention et le traitement des rejets aigus de greffe ainsi qu'en hématologie dans le traitement de l'aplasie médullaire. Commercialisé dans 69 pays, ce médicament a pour particularité d'être composé de gamma-immunoglobulines polyclonales de lapin anti-thymocytes humains.
Les premières étapes du procédé de fabrication consistent à produire des suspensions thymocytaires à partir de fragments thymiques humains issus des déchets opératoires de chirurgies cardio- thoraciques pédiatriques. Ces suspensions de thymocytes purifiés sont utilisées pour l'immunisation de lapins SPF (Specific Pathogen Free) et la production de sérum.
Mon projet au sein du Manufacturing Technology Support a été de développer et implémenter une nouvelle méthode de mesure de la viabilité et de la concentration cellulaire de ces suspensions thymocytaires en répondant à des critères de qualité, sécurité et de performance industrielle. La technologie retenue a été la cytométrie d'image en fluorescence avec l'appareil NucleoCounter® NC- 200™.
J'ai tout d'abord développé une méthode, évalué sa performance et la faisabilité du projet. Puis, en tant que project manager, j'ai géré un large panel de thématiques allant de l'aspect technique (robustesse, spécificité …), financier (CAPEX, OPEX …), supply (Approvisionnement en matière première et relations fournisseurs), qualité (Change Control Leader), qualification, réglementaire, validation des systèmes informatisés ou encore validation analytique. Ce projet m'a permis de coordonner les actions de différents départements du site et par conséquent d'appréhender leurs contraintes dans un environnement GMP.

Development of a new method of viability and cell concentration measurement of thymocyte suspensions with fluorescence image cytometry and implementation in a production environment.

Sanofi-Genzyme produces in Lyon Thymoglobulin®, a treatment indicated for the prophylaxis and treatment of acute rejection of transplant and in hematology for the treatment of bone marrow suppression. Marketed in 69 countries, this treatment has the special feature of being composed of rabbit polyclonal anti-thymocytes immunoglobulins.
The first steps of the manufacturing process consist in producing thymocyte suspensions from human thymic fragments obtained from waste of pediatric cardio-thoracic surgery. These thymocyte suspensions are used for the immunization of SPF (Specific Pathogen Free) rabbits and serum production.
My project within the Manufacturing Technology Support department was to develop and implement a new method of viability and cell concentration measurement of these thymocyte suspensions meeting quality, safety and industrial performance goals. Fluorescence image cytometry was the technology selected with NucleoCounter® NC-200™ equipment.
I started by developing the method, evaluating its performance and assessing the feasibility of the project. Then, as a project manager, I managed a wide range of topics such as technical aspect (robustness, specificity …), financial aspect (CAPEX, OPEX ...), supply (sourcing raw material and supplier relationship), quality (Change Control Leader), qualification, regulatory, validation of computerized systems or analytical validation. This project was an opportunity to coordinate actions of multiple departments and therefore to understand their constraints in a GMP environment.

Madeleine SAVIGNY

3A-classique

CELLINK

Gothenburg ● Suède

01/03/2018→31/08/2018

Maître(s) de stage / Supervisor(s) : ***Itedale REDWAN***

Développement de bioencres destinées à la bioimpression 3D.

La fabrication additive correspond aux procédés de fabrication de composants construits couche par couche, la bioimpression 3D en est une sous catégorie. Cette technologie innovante présente un futur prometteur dans le domaine de la médecine. En effet, la conception d'organes tridimensionnels bioimprimés pourrait être une formidable alternative à l'expérimentation animale et au criblage pharmaceutique.
CELLINK est une start-up qui se concentre sur le développement et la commercialisation de technologies liées à la bioimpression telles de nombreuses bioencres et des bioimprimantes 3D. Cette compagnie en plein essor m'a permise d'acquérir des compétences dans différents domaines tels que la recherche et le développement, la production et le marketing. J'ai eu la chance de travailler en étroite collaboration avec l'équipe de développement des bioimprimantes afin de tester les mises à jour du logiciel de la BIO X en tant qu'utilisateur bêta. De plus j'ai réalisé du contrôle qualité des machines ainsi qu'un didacticiel montrant comment imprimer avec la bioimprimante BIO X.
Pendant toute la durée de mon stage, j'ai développé une toute nouvelle série de bioencres, la série CELLINK® LAMININ. Cette dernière est composée de cinq bioencres supplémentées de laminine. Des études de biocompatibilité ont étés réalisées en incorporant différents types cellulaires dans les bioencres. Une fois imprimées, la viabilité des échantillons est évaluée par un marquage LIVE/DEAD. En outre, une caractérisation rhéologique et une étude de l'imprimabilité a été menée à bien pour évaluer les propriétés physiques des nouvelles bioencres. Après cinq mois de développement, les bioencres sont officiellement disponibles à l'achat début septembre.

Bioinks development designed for 3D bioprinting.

Additive manufacturing refers to the production of components built up layer by layer, 3D bioprinting is one of its many subsets. This pioneering technology displays promising outcomes in the field of medicine. Indeed, the design of 3D bioprinted organ models would be a great alternative to animal testing and drug screening purposes.
CELLINK is a start-up that focuses on the development and commercialisation of bioprinting technologies such as numerous bioinks and 3D bioprinters. This growing company enabled me to run along several lines including research, development, production and marketing. I had the chance to work closely with the bioprinter development team to test software updates on the BIO X as a beta-user, to do quality control on machines and to provide a video tutorial showing how to print with the BIO X.
During my internship, I developed a brand new series of bioinks: the CELLINK® LAMININ Series. The latter is composed of five laminin-supplemented bioinks. Biocompatibility assays were run with numerous bioink-embedded cells. Once bioprinted, samples' viability is evaluated using LIVE/DEAD staining. In addition, rheological and printability characterisations are carried out to assess the physical properties of the new bioinks. After five months of development, CELLINK® LAMININ bioinks are officially available for purchase in September.

Marie TARDY

3A-classique

GALAPAGOS

Leiden ● Pays-Bas

Maître(s) de stage / Supervisor(s) : ***Anaïs LEGENT***

05/03/2018→31/08/2018

Mise en place d'un essai de sélection de gènes impliqués dans les maladies inflammatoires du système digestif.

Les maladies inflammatoires du système digestif regroupent la maladie de Crohn et les rectocolites hémorragiques. Une des caractéristiques de ces maladies est la sur prolifération de macrophages induisant l'inflammation, communément appelés macrophages de type M1. Dans des conditions homéostatiques, les cytokines et chimiokines présentes dans l'environnement cellulaire induisent la polarisation des macrophages vers ceux dits anti-inflammatoires ou macrophages de type M2 Ces derniers sécrètent des cytokines et chimiokines qui permettent également d'éviter l'inflammation. La connaissance des gènes impliqués dans ce mécanisme de polarisation permettrait de développer des traitements visant à réduire leur expression afin de diriger la polarisation de ces cellules vers des sous-types anti-inflammatoires.
Afin d'étudier des centaines voire des milliers de gènes en un seul essai, la technique de sélection choisie consiste en la transduction de macrophages par un groupe de lentivirus, chacun contenant une séquence unique d'ARN en épingle à cheveux. Les lentivirus permettent une intégration stable dans le temps des séquences d'ARN et leur configuration conduit à l'absence d'expression du gène cible. Ainsi, si les macrophages immatures présentent des caractéristiques phénotypiques, transcriptomiques et/ou protéomiques spécifiques de ceux du type M2 post-transduction, bien que les conditions de culture favorisent leur polarisation vers des sous-types pro-inflammatoires, cela signifie que le gène ciblé est impliqué dans la polarisation des macrophages vers un type inflammatoire. La protéine issue de l'expression de ce gène peut alors devenir une cible pour le développement de molécules qui permettrait d'inhiber sa fonction pour en faire un traitement pour ces maladies.
L'objectif de ce stage est d'optimiser toutes les étapes de cet essai.

Implementation of a screening assay for genes implicated in inflammatory bowel disease.

Inflammatory bowel diseases include Crohn's disease and ulcerative colitis. One of their characteristics is the over-proliferation of macrophages that induce inflammation, commonly known as M1 macrophages. In gut homeostasis, the cytokines and chemokines present in the environment induce the polarization of macrophages towards anti-inflammatory macrophages also known as M2 macrophages. These cells secrete cytokines and chemokines that also prevent inflammation. Knowing which genes are implicated in this polarization process could lead to the development of treatments that would target their expression in order to reduce it and enable a polarization of these cells towards anti-inflammatory subtypes.
To study hundreds or even thousands of genes in a single assay, the selected screening technique is macrophage transduction by a pool of lentiviruses, each containing a single and unique sequence of short hairpin RNA. Lentiviruses enable a stable integration of RNA and their shape leads to the knock-down of the targeted gene. Thus, if the immature macrophages acquire phenotypic, transcriptomic, and/or proteomic characteristics of M2 macrophages post- transfection while growing in condition that would have polarized them towards M1 macrophages in the absence of transfection, it might signify the knock-down gene has an impact on polarization towards pro-inflammatory macrophages. The protein produced by the expression of this gene could then become a target to develop molecules that could inhibit its function to create a new treatment for these diseases.
The aim of this internship is then to optimize each single step of this lentivirus pooled screen assay.

Astrid THIRY

3A-classique

Technologie SERVIER

ORLEANS ● France

Maître(s) de stage / Supervisor(s) : ***Vanessa BECQ***

26/03/2018→14/09/2018

Approche comparative des méthodes LC et HPTLC dans le cadre de développement pharmaceutique.

La technique analytique HPTLC (High Performance Thin-Layer Chromatography) est une méthode de chromatographie sur couche mince en grande partie automatisée, bien plus rapide et plus résolutive que la CCM classique. Elle présente également l'avantage de pouvoir être couplée à un spectromètre de masse, ce qui renforce son intérêt par rapport à des méthodes HPLC non compatibles avec la spectrométrie de masse. L'objectif de ce stage à Technologie Servier est d'amorcer l'instauration de l'HPTLC comme nouvel outil d'analyse de substances en complément de la chromatographie liquide, afin de compléter les informations obtenues via d'autres techniques d'analyses, d'attester de la pureté des pics d'intérêt dans les profils chromatographiques et de décrire ces éléments dans les dossiers réglementaires. Au cours de ce stage différentes hypothèses ont été envisagées. La première approche expérimentée a consisté à transposer directement les conditions HPLC -en utilisant la même phase mobile et la même phase stationnaire- en HPTLC afin de minimiser l'impact du temps passé sur la mise au point de conditions HPTLC et de permettre une exploitation des résultats plus facile par correspondance simple entre les profils HPLC et HPTLC. Cependant au vu des résultats obtenus, cette stratégie semble peu adaptée. Il paraît donc indispensable de développer une méthode HPTLC spécifique et d'établir une correspondance entre les deux méthodes. Cette méthode, devra par la suite, être validée.

Comparative study of LC and HPTLC methods for pharmaceutical development.

The analytical technique HPTLC, (or High Performance Thin-Layer Chromatography) is a mainly automated thin-layer chromatography method, which is faster and has a higher resolution than traditional TLC. One of its main advantages is that it can be coupled with a mass spectrometer, which can be very interesting compared to the HPLC methods not compatible with mass spectrometry. The goal of this internship at Technologie Servier is to implement HPTLC as a new tool to analyse substances in addition to liquid chromatography data, in order to complete the information obtained through other analysis techniques, to attest the purity of the peaks of interest in the chromatographic profiles and to describe these elements in regulatory documents. During this internship, different hypotheses were examined. The first approach tested consisted in a direct transposition of the HPLC conditions -with the same mobile phase and stationary phase- to HPTLC in order to minimise the time spent on adjusting HPTLC conditions and to allow an easier exploitation of results by simple equivalence between HPLC and HPTLC profiles. However, in view of the results obtained this strategy does not seem appropriate. Hence it appears necessary to develop a specific HPTLC method and to establish a correspondence between the two methods. Then this method has to be validated.

Solène TOUSSAINT

3A-classique

SANOFI WINTHROP INDUSTRIE

GENTILLY ● France

Maître(s) de stage / Supervisor(s) : ***Marjory CHAYOUX***

05/03/2018→31/08/2018

Participer à la stratégie de mise en conformité réglementaire pour des produits type dispositifs médicaux, compléments alimentaires et cosmétiques, commercialisés sur un périmètre mondial (excepté US, Canda, Chine et Japon).

La mise en conformité réglementaire d'un produit CHC (Consumer HealthCare) consiste à s'assurer que le produit respecte bien toutes les règles auxquels il est soumis.
L'EM (External Manufacturing) CHC Gentilly est une unité de Sanofi Winthrop Industrie et gère un portefeuille de produits CHC Drug et Non Drug fabriqués par des CMOs (Contract Manufacturing Organization) européennes et distribués dans le monde. Les produits Non Drug comprennent les dispositifs médicaux, les compléments alimentaires et les cosmétiques. Ces produits sont soumis à plusieurs règlements et/ou directives européennes ainsi qu'aux requis qualité de Sanofi.
Mes projets principaux étaient de veiller à la conformité réglementaire des produits Non Drug du portefeuille de l'EM CHC Gentilly et de valider la conformité de produits sur le point d'intégrer ce même portefeuille. Pour cela, j'ai été amenée à collaborer avec les CMOs ainsi qu'avec l'équipe Innovation de l'EM CHC Gentilly.
En parallèle, j'ai travaillé sur le processus de maîtrise des changements et sur le suivi des changements.

Take part in the regulatory compliance strategy for products such as medical devices, food supplements and cosmetics, distributed worldwide.

The regulatory compliance of a CHC (Consumer HealthCare) product is to ensure that the product complies with all the regulation to which it is subjected.
EM (External Manufacturing) CHC Gentilly is a unit of Sanofi Winthrop Industrie and manages a portfolio of CHC Drug and Non-Drug products manufactured by European CMOs (Contract Manufacturing Organizations) and distributed worldwide. Non Drug products include medical devices, food supplements and cosmetics. These products are subject to several European regulations and / or directives as well as Sanofi's quality requirements.
My main projects were to ensure the regulatory compliance of the non-drug products in the EM CHC Gentilly portfolio and to validate the compliance of products about to become part of the same portfolio. For this, I worked with the CMOs as well as with the EM CHC Gentilly Innovation team.
In parallel, I worked on the change control process and the monitoring of changes

Jean-Baptiste VERGNES

3A-CBI

Laboratoire d'Ingénierie des systèmes biologiques et procédés

TOULOUSE ● France

Maître(s) de stage / Supervisor(s) : ***Pascal GUIRAUD***

26/03/2018→14/09/2018

Optimisation de conditions de culture et de récolte de microalgues.

Arthrospira platensis, appelée communément Spiruline, est un microorganisme photosynthétique vivant naturellement dans des eaux alcalines, chaudes, saumâtres et peu profondes. Généralement qualifiée de microalgue, cette cyanobactérie est également cultivée en bassins ouverts ou en photobioréacteurs (PBR). Au sein de l'équipe Transfert-Interface-Mélange au LISBP, dans le cadre du projet PLAISIR, elle est cultivée en milieu synthétique, dans des photobioréacteurs contrôlés et fermés avec une source de lumière artificielle. Les PBR du LISBP permettent de lancer des cultures non axéniques en procédé Batch. Cet apport de lumière et les différentes concentrations en nutriments composants le milieu, influent sur la croissance de la spiruline, sa morphologie et les molécules qu'elle produit. Dans le cadre de ce projet, je m'intéresse d'une part à l'influence de l'intensité lumineuse sur la croissance de la spiruline. D'autre part, je m'intéresse également à l'influence de la concentration en certains nutriments dans le milieu de culture sur la croissance de la spiruline, ainsi qu'aux variations de pH dans le milieu de culture. Les résultats de ces expériences apportent des connaissances nécessaires pour l'optimisation de la croissance de la spiruline d'une part et aident à la validation expérimentale d'un modèle mathématique de l'évolution de l'activité photosynthétique en fonction de la concentration en ions bicarbonates d'autre part.
Une fois les conditions de culture optimisées, il faut ensuite récolter la spiruline pour en exploiter son potentiel. Pour cela, parmi les différents procédés envisageables, celui auquel je m'intéresse consiste à récolter la spiruline par floculation/flottation. La floculation des cellules peut être naturelle, induite par certaines conditions de culture, ou bien assistée par l'utilisation d'agents chimiques (cations métalliques, polymères cationiques…). Elle permet notamment de former de larges flocs pouvant faciliter la séparation avec le milieu de culture ; pour cette raison elle sert souvent de méthode de pré-récolte. Après floculation, les flocs de cellules sont ensuite séparés de l'eau par un procédé de flottation à air dissous. La deuxième partie de mon stage consiste alors, en m'appuyant sur les connaissances générées dans la première partie, à définir des conditions de culture permettant la floculation naturelle des cellules, et leur séparation par flottation. Ces résultats aident à la mise au point d'un protocole de floculation-flottation et l'efficacité de récolte est comparée à celle obtenue avec des floculants chimiques.

Optimisation of culture and harvesting conditions of microalgae.

Arthrospira platensis, commonly named Spirulina, is a photosynthetic microorganism growing naturally in alkaline brackish shallow and warm water. Usually named as microalgae, this cyanobacterium is also grown in open ponds or photobioreactors. Within the Transfert-Interface-Mélange team of the LISBP, in the PLAISIR project context, it is grown in a synthetic culture medium in closed and controlled photobioreactors with artificial light source. The PBR of the LISBP allows to set up non axenic cultures in a batch process. These different nutriments concentrations and light intakes impact the spirulina growth, its morphology and the molecules it produces. As part of this project, I am studying the impact of the light intensity on the spirulina growth on a hand. On the other hand, I am studying the impact of different nutriments concentration in the culture medium on the cell growth and the pH variation of this culture medium. The results of these experiments bring necessary knowledge to optimize the spirulina growth on a hand and it helps to experimentally validate a mathematical model of the evolution of photosynthetic activity depending on the bicarbonate ions concentration on the other hand.
When the culture conditions are optimized, spirulina must be harvested to use its potential. Among the possible processes to harvest spirulina, the one I am interesting in is a flocculation/flotation process. Cells flocculation can be natural, induced by different culture conditions, or assisted with the use of chemical agents (metal cations, cationic polymers…). It allows the formation of big flocks which are easier to separate from the culture medium, this is the reason it is often used as a pre-harvest method. After the flocculation, the flocks are separated from water by a dissolved air flotation process. In my internship second part, by relying on the knowledge generated from the first part, I am looking for defining culture conditions inducing a natural flocculation of the cells and to separate them from the culture medium by flotation. These results help on the development of a flocculation-flotation protocol and the harvesting efficiency will be compared to the one obtained with chemical flocculants.

Guislaine ZOLLER

3A-GEM

GlaxoSmithKline

RUEIL-MALMAISON ● France

Maître(s) de stage / Supervisor(s) : ***Karine RONCE***

Chef de produit junior vaccins.

Actuellement en alternance au sein du département « Marketing Vaccin » de l'entreprise GlaxoSmithKline en tant que « Chef de produit junior », je suis en charge du vaccin pédiatrique Infanrixhexa et du vaccin du voyage Havrix. Mon travail consiste principalement à créer la campagne de communication autour de ces vaccins. Cette campagne (discours, documents papiers, digitaux…) sera déclinée auprès des médecins par les visiteurs médicaux. Elle doit donc répondre aux besoins des visiteurs médicaux, c'est pourquoi les ventes et le marketing sont en interaction constante.
Durant cette année, deux principaux challenges se sont présentés : l'adaptation au marché français de la nouvelle campagne d'Infanrix hexa élaborée par la maison mère anglaise, ainsi que l'organisation de l'évènement « Les Nocturnes de la Vaccination ».
Dans ce cadre, le poste de chef de produit junior implique la collaboration avec de nombreux autres départements tels que le médical, les études de marchés, le réglementaire etc…

Product manager junior.

Doing an apprenticeship within the « Marketing vaccine » department as a « Product manager junior » at GlaxoSmithKline, I am working on a pediatric vaccine named Infanrix hexa and the travel vaccine Havrix. My daily work involves the creation of the communication campaign around these vaccines. This campaign (speech, papers document or digital) will be use with the general practitioner or pediatrician by the sales representatives. Indeed, the campaign must meet the sales representative needs. The sales and marketing department has to work closely together.
During this year we had to face two main challenges: the adaptation of the international marketing campaign for the French market and the organization of the event named "Les Nocturnes de la Vaccination".
Working as a product manager involved interaction with several department like medical, regulatory or market analysis.