Gabriel
BALOGE

FISE Mobilité S9

INSERM - UMR1037 CRCT

TOULOUSE ● FRANCE

Tuteur(s) / Supervisor(s) : Stefania MILLEVOI

2/23/2025 ⟶ 8/23/2025

Régulation épitranscriptomique par des structures d'ARN non canoniques dans le cancer

Rapport non confidentiel
Soutenance non confidentielle

Recherche, ARN, Cancer, Méthylation, G-quadruplexes

La N6-méthyladénosine (m6A) est la modification la plus fréquente des ARNm et joue un rôle clé dans la régulation post-transcriptionnelle des gènes liés au cancer. Cette modification est ajoutée par des enzymes appelées " writers " (comme METTL3), retirée par des " erasers " (tels qu'ALKBH5), et reconnue par des " readers " (comme YTHDF1). Toutefois, les mécanismes qui gouvernent sa localisation et ses effets restent encore mal compris. Des travaux récents ont montré que la structure de l'ARN pouvait influencer l'installation des m6A, en particulier les structures canoniques. Le rôle des structures non canoniques, en revanche, demeure peu exploré. Parmi elles, les G-quadruplexes (RG4) sont connus pour moduler l'expression de nombreux gènes, notamment ceux impliqués dans le cancer. Les travaux de l'équipe ont suggéré une interaction fonctionnelle entre RG4 et m6A. Une analyse bioinformatique a ainsi révélé leur colocalisation fréquente dans les régions 5' et 3' UTR des ARNm. Des expériences de pull-down d'ARN couplées à de la spectrométrie de masse ont montré que certaines protéines du complexe de méthylation, telles que METTL3, peuvent se lier aux RG4, suggérant un rôle non catalytique dans la régulation de la traduction. À l'inverse, certaines protéines impliquées dans la régulation de la traduction via les RG4 sont moins enrichies lorsque la m6A est présente, ce qui suggère une modulation de leur activité. Ce stage a pour objectif de caractériser ces interactions ARN-protéines in vitro et in cellulo, d'analyser leur influence sur la colocalisation m6A-RG4, et d'explorer leur impact fonctionnel sur la traduction. Ce travail permettra d'approfondir la compréhension de l'interaction entre RG4 et m6A, deux régulateurs émergents de l'expression génique dans le cancer.

Epitranscriptomic regulation by non-canonical RNA structures in cancer

Remis à NT. Conservé pendant 3 ans

Research, RNA, Cancer, Methylation, G-quadruplexes

N6-methyladenosine (m6A) is the most common modification of mRNA and plays a key role in the post-transcriptional regulation of cancer-related genes. This modification is added by enzymes known as writers (such as METTL3), removed by erasers (like ALKBH5), and recognized by readers (such as YTHDF1). However, the mechanisms governing its localization and effects remain poorly understood. Recent studies have shown that RNA structure can influence m6A deposition, particularly canonical structures. The role of non-canonical structures, however, remains largely unexplored. Among them, G-quadruplexes (RG4s) are known to modulate the expression of many genes, especially those involved in cancer. The team's work has suggested a functional interaction between RG4s and m6A. A bioinformatic analysis revealed that they frequently colocalize in the 5' and 3' UTRs of mRNAs. RNA pull-down experiments coupled with mass spectrometry have shown that some proteins from the methylation complex, such as METTL3, can bind RG4s, suggesting a non-catalytic role in translational regulation. Conversely, some proteins involved in translational control via RG4s are less enriched when m6A is present, suggesting a modulation of their activity. The aim of this internship is to characterize these RNA-protein interactions both in vitro and in cellulo, to analyze their influence on m6A-RG4 colocalization, and to explore their functional impact on translation. This work will provide deeper insight into the interplay between RG4s and m6A, two emerging regulators of gene expression in cancer.

Mathias BARONNET

CP

TREEFROG

CANÉJAN ● FRANCE

Tuteur(s) / Supervisor(s) : Quentin RICHARD

10/1/2024 ⟶ 9/26/2025

Mise en place d'optimisations d'un procédé de culture cellulaire lié à la technologie C-stem de Treefrog

Rapport confidentiel
Soutenance confidentielle

Culture cellulaire, C-stem, cytométrie de flux, Optimisation, Expansion cellulaire.

Le projet consiste à optimiser un procédé utilisant la technologie C-stem de Treefrog. La technologie C-stem permet l'encapsulation de cellules puis leur expansion dans des bioréacteurs. Cela a par exemple permis l'obtention de 15 milliards de cellules souches dans un bioréacteur de 10L après 7 jours de culture, avec un facteur d'amplification de 276x. Ces cellules peuvent ensuite ou en en parallèle être différenciées pour obtenir des neurones dopaminergiques, qui pourront ensuite être implanté chez le patient pour traiter la maladie de Parkinson. Mon projet nécessite l'utilisation de la cytométrie en flux afin d'analyser les cellules obtenues suite à la culture avec la technologie C-stem. La cytométrie en flux repose sur l'utilisation d'anticorps liés à des flurochromes, qui peuvent se fixer à des marqueurs spécifiques exprimés par les cellules. Puis le cytomètre en flux permet d'exciter les flurochromes et donc de détecter la liaison entre un marqueur exprimé par une cellule et un anticorps. Cela permet donc de mesurer l'expression de ces marqueurs par les cellules. Le projet comporte également une notion d'optimisation de la culture avec C-stem, en optimisant par exemple le milieu de culture ou les paramètres du bioréacteur.

Optimisation of a cell culture process using Treefrog's C-stem technology

Détruit après soutenance par le rapporteur

Cell culture, C-stem, Flow cytometry, Optimisation, Cell expansion.

The project involves optimising a process using Treefrog's C-stem technology. C-stem technology enables cells to be encapsulated and then expanded in bioreactors. For example, 15 billion stem cells were obtained in a 10 L bioreactor after 7 days of culture, with an amplification factor of 276x. These cells can then or in parallel be differentiated to obtain dopaminergic neurons, which can then be implanted in patients to treat Parkinson's disease. My project requires the use of flow cytometry to analyse the cells obtained following culture with C-stem technology. Flow cytometry is based on the use of antibodies linked to flurochromes, which can bind to specific markers expressed by the cells. The flow cytometer then excites the flurochromes and detects the binding between a marker expressed by a cell and an antibody. This makes it possible to measure the expression of these markers by the cells. The project also involves optimising culture with C-stem, for example by optimising the culture medium or bioreactor parameters.

Alexandra BARREAU

FISA

OSE IMMUNOTHERAPEUTICS

NANTES ● FRANCE

Tuteur(s) / Supervisor(s) : Damien HABRANT

9/11/2023 ⟶ 9/26/2025

Production et caractérisation d'ARN et de nanoparticules lipidiques contenant des ARN à visée thérapeutique

Rapport confidentiel
Soutenance confidentielle

Production, Caractérisation, ARN, Nanoparticule, Thérapeutique

Je fais partie de la plateforme RNA therapeutics chez Ose Immunotherapeutics, qui consiste à produire des ARN messagers dans le but de développer une immunothérapie dans les domaines de l'oncologie et des maladies inflammatoires chroniques. Les ARNm sont produits par transcription in vitro grâce à une ARN polymérase à partir d'une matrice d'ADN construite et amplifiée dans des bactéries E.Coli. Ces ARN sont ensuite purifiés et encapsulés dans les LNP (Lipid NanoParticle ou nanoparticules lipidiques), ce qui leur permet d'être délivrés au sein des cellules après la fusion des LNP avec les membranes cellulaires. Les ARN étant des molécules fragiles et instables, il est nécessaire de pouvoir évaluer leur pureté et leur qualité après production. Mon projet au sein de la plateforme est d'exécuter et développer des essais servant de contrôle qualité :
Des ARNm seuls :
Evaluation de la pureté des ARNm produits via la quantification de la proportion de produit attendu et des produits non attendus en fonction de leur taille après migration sur gel d'agarose et analyse de l'image du gel sur le logiciel ImageJ
Des LNP contenant les ARNm:
Mesure de l'efficacité de transfection cellulaire (EC50) des LNP-ARN pour analyser la variabilité entre les différents lots produits par la plateforme
Quantification des ARN double brins (produits indésirables) via le TLR3 assay (transfection dans des cellules exprimant le récepteur TLR3 qui entraîne la production de nanoluciférase après détection d'ARN double brins)
Quantification d'anticorps anti-drug" (aussi appelés ADA, anti-drug antibodies) dirigés contre le PEG, un composant des nanoparticules lipidiques contenant les ARN. Pour cela, j'ai développé un ELISA indirect pour détecter et doser ces anticorps dans les sérums de souris ayant reçu plusieurs injections de LNP et ainsi évaluer l'immunogénicité de ces LNP. Il est important de connaître la présence de ces ADA qui peuvent avoir un impact significatif sur la biodistribution et l'efficacité des LNP-ARN.

Production and characterization of RNA and lipid nanoparticles containing therapeutic RNA.

Détruit après soutenance par le rapporteur

Production, Characterization, RNA, Nanoparticle, Therapeutic

At Ose Immunotherapeutics, I work on the RNA therapeutics platform which is used to produce mRNA in order to develop an immunotherapy in the fields of oncology and chronic inflammatory diseases. The mRNA are made by in vitro transcription thanks using an RNA polymerase from a DNA template that has been built and amplified in E.Coli bacteria. Afterwards, the mRNAare purified and encapsulated in LNPs (Lipid Nanoparticles) which allow them to enter into cells by merging with cell membranes. As mRNA are unstable and fragile, it is essential to assess their purity and quality after production. My project within the platform is to execute and develop quality control assays for :
mRNA alone:
Purity assessment of the mRNA through quantification of the proportion of expected product and non expected products according to their size after agarose gel electrophoresis and gel image analysis with ImageJ software
LNP containing mRNA:
Measurement of cellular transfection efficacy (EC50) of LNP-RNA to analyze variability between the different batches produced by the platform
Quantification of double stranded RNA (undesired product) using the TLR3 assay (transfection of TLR3-expressing cells which leads to nanoluciferase production after detection of double stranded RNA)
Quantification of anti-drug antibodies (ADA) targeting PEG, a lipid nanoparticle component. For this purpose, I developed an indirect ELISA to detect and quantify these antibodies in mouse sera after multiple LNP injections in order to assess immunogenicity of the LNPs. It is important to be aware of the presence of these antibodies as they can significantly impact the biodistribution and efficacy of LNP-RNA.

Delphine BARREAU

FISA

SANOFI WINTHROP INDUSTRIE

MARCY L'ETOILE ● FRANCE

Tuteur(s) / Supervisor(s) : Guillaume JEANNE

9/4/2023 ⟶ 9/26/2025

Développement d'outils PAT : de la recherche d'une solution de suivi d'un procédé de culture cellulaire, à la standardisation de l'utilisation de capteurs en ligne.

Rapport confidentiel
Soutenance confidentielle

PAT, Suivi en ligne, Vaccin, Culture cellulaire, Trypsination, Spectrométrie de masse

Le PAT (Process Analytical Technology) est un outil pour concevoir, analyser et contrôler le processus de fabrication des produits pharmaceutiques par la mesure des paramètres processus et des attributs qualité du produit. L'objectif de mon alternance a été de répondre à une problématique technique avec des outils PAT mais également d'harmoniser l'utilisation d'outils PAT à travers différents sites.
Certains procédés de vaccins utilisent des cellules adhérentes comme plateforme d'expression et de production. Une étape de trypsination est donc nécessaire afin d'augmenter la surface de culture à chaque stade. En développement, cette étape est piloté par observation microscopique off-line pouvant introduire un biais. L'objectif est donc d'explorer différents capteurs en ligne permettant de générer des données en temps réel afin de mieux suivre l'étape de trypsination.
Pour d'autres étapes de procédé, la spectrométrie de masse est largement utilisé comme outil de suivi PAT et permet d'analyser la composition des gaz de culture. Elle est utilisé en routine pour certains procédés, cependant, l'installation, l'utilisation et l'interprétation des résultats nécessitent d'être harmoniser afin de pouvoir comparer les procédés.

PAT tools development: from researching a cell culture process monitoring solution to standardizing the use of online sensors.

Détruit après soutenance par le rapporteur

PAT, Online monitoring, Vaccine, Cell culture, Trypsinization, Mass spectrometry

The PAT (Process Analytical Technology) is a tool for designing, analyzing, and controlling pharmaceutical manufacturing processes through the measurement of process parameters and product quality attributes. The objective of my apprenticeship was to address a technical challenge using PAT tools while also harmonizing the use of PAT tools across different sites.
Some vaccine processes use adherent cells as an expression and production platform. A trypsinization step is therefore necessary to increase the culture surface at each stage. In development, this step is controlled by off-line microscopic observation, which can introduce bias. The objective is thus to explore different online sensors capable of generating real-time data to better monitor the trypsinization step.
For other process steps, mass spectrometry is widely used as a PAT monitoring tool and allows analysis of culture gas composition. It is routinely used for certain processes; however, the installation, use, and interpretation of results need to be harmonized to enable process comparison.

Margot BERQUEZ

FISE Mobilité S9

BIOMEMORY — **PARIS ● FRANCE**

Tuteur(s) / Supervisor(s) : Charlotte MITON — **3/3/2025 ⟶ 8/29/2025**

Ingénierie Enzymatique pour le stockage de données sur l'ADN

Rapport confidentiel
Soutenance confidentielle

Ingénierie Enzymatique, Mutations rationnelles, Nouvelle fonction Enzymatique, Stockage de données sur l'ADN

L'utilisation massive des nouvelles technologies a engendré une accumulation des données numériques stockées dans des supports rapidement obsolètes et non recyclables. Biomemory est une startup localisée à Paris qui ambitionne de stocker ces données numériques sur le support du vivant, l'ADN. Pour cela, une technique a été développée par Biomemory visant à assembler des briques d'ADN en utilisant des enzymes. Mon rôle a été d'optimiser ce procédé grâce à l'ingénierie enzymatique, notamment en créant une enzyme X possédant une nouvelle fonction et brevetable par Biomemory. Ainsi, des mutations rationnelles ont été effectuées en s'inspirant de mutations déjà décrites sur des homologues de l'enzyme X. Ces variants ont été purifiés puis caractérisés confirmant la nouvelle fonction. Dans un deuxième temps, d'autres homologues ont été testés afin de créer une fonction n'existant pas dans la nature, celle-ci étant clé dans le bioprocédé de Biomemory.

Enzyme engineering for DNA data storage

Détruit après soutenance par le rapporteur

Enzyme engineering, Rational mutations, New enzyme function, DNA data storage

The massive use of new technologies has led to an accumulation of digital data stored on media that are rapidly becoming obsolete and cannot be recycled. Biomemory is a start-up based in Paris that aims to store digital data on the living medium, DNA. To achieve this, Biomemory has developed a technique for assembling DNA building blocks using enzymes. My role was to optimise this process using enzyme engineering, in particular by creating an enzyme X with a new function that could be patented by Biomemory. Rational mutations were made based on mutations already described in homologs of the X enzyme. These variants were purified and then characterised, confirming the new function. Secondly, other homologs were tested in order to create a function that does not exist in nature, as this is key to the Biomemory bioprocess.

Chloé
BILLOD-MOREL

FISE

LALLEMAND SAS — **BLAGNAC ● FRANCE**

Tuteur(s) / Supervisor(s) : Céline RAYNAL — **3/3/2025 → 9/5/2025**

Impact des vitamines sur la fermentation alcoolique et caractérisation des besoins de différentes souches de levures oenologiques.

Rapport confidentiel
Soutenance confidentielle

R&D - microbiologie - oenologie - fermentation alcoolique - levures - screening - plan d'expérience - CMF - GC

Les levures sont indispensables au procédé de vinification en transformant le sucre du raisin en alcool (fermentation alcoolique). Les vitamines ont un rôle particulièrement important dans ce procédé, autant pour la viabilité des levures que pour les arômes donnés au vin. Cependant, les besoins des levures en vitamines dans les conditions oenologiques sont peu caractérisés. Ce PFE s'articule autour de 3 axes majeurs : l'étude de l'impact des vitamines (identification des vitamines essentielles), la recherche de conditions discriminantes afin de classer les levures et enfin la classification plusieurs souches oenologiques.
Mon rôle a été de faire un état des lieux des connaissances sur ce sujet et de proposer des conditions à tester, d'organiser et réaliser les expériences et d'analyser les résultats des précédentes manipulations pour décider des suivantes.
J'ai réalisé des fermentations en petit volume pour tester un maximum de conditions différentes, le suivi étant automatisé (robot). J'ai réalisé des plans d'expériences afin d'optimiser le nombre d'essais, j'ai effectué des analyses de viabilité de biomasse au cytomètre en flux (CMF) ainsi que l'étude du profil aromatique du vin par chromatographie en phase gazeuse (GC).

Impact of vitamins on alcoholic fermentation and characterization of the needs of different yeasts strains in oenology.

Détruit après soutenance par le rapporteur

R&D - Microbiology - Oenology - Alcoholic fermentation - Screening -yeasts - Experimental design - CMF - GC

Yeasts are essential to the winemaking process, transforming grape sugar into alcohol (alcoholic fermentation). However, their vitamin requirements have not been characterized, making it impossible to identify deficiencies. This PFE is based around 3 major themes: the study of the impact of vitamins (identification of essential vitamins), the search for discriminating conditions to classify yeasts and finally the classification of several oenological strains.
My role was to assess the current state of knowledge on this subject, suggest conditions to be tested and analyze the results of previous experiments in order to create new ones.
I carried out small-volume fermentations to test as many different conditions as possible, with automated monitoring (robot). I drew up experimental plans to optimize the number of trials, carried out biomass viability analyses using a flow cytometer (CMF) and studied the aromatic profile of the wine using gas chromatography (GC).

Alice BOUILLE

FISE Mobilité S9

INSERM DELEGATION REGIONALE GRAND OUEST

NANTES ● FRANCE

Tuteur(s) / Supervisor(s) : Michel COGNÉ

3/3/2025 ⟶ 8/14/2025

Production d'anticorps polyspécifique par édition génétique des Lymphocytes B

Rapport non confidentiel
Soutenance non confidentielle

Lymphocyte B, Thérapie Bar-B, Knock In, BiscFv, Optimisation

Mon stage de fin d'études se déroule à Rennes dans l'équipe Inserm/EFS " BIGReS " (U1236 Mobidic). Il est dédié à l'édition génomique des lymphocytes B (LB). Ces cellules immunitaires complexes possèdent de multiples fonctions : présentation de l'antigène, production de cytokines, participation à la mémoire immunitaire et différenciation en plasmocytes producteurs d'anticorps (Ac). Ces propriétés ont conduit l'équipe à initier le projet " B-cell Antibody-Releasing Biotherapies " (BAR-B), visant à prélever des LB d'un patient, les modifier génétiquement, puis les réinjecter en vue de la production durable d'Ac thérapeutique in vivo. Un des défis de cette approche est l'insertion efficace d'ADN dans le génome de LB humains. Pour la faciliter, je développe l'utilisation de sérines recombinases, des enzymes d'origine bactérienne capables d'insérer de longues séquences d'ADN de manière site-spécifique et orientée, sans besoin de cassure double brin. Pour cela, j'ai conçu et validé les plasmides nécessaires aux étapes d'insertion. Par stratégie CRISPR/Cas9, j'ai ensuite réalisé une première étape d'intégration au génome d'un " site d'atterrissage " propice à des insertions ultérieures. Ce site est associé à gène rapporteur, codant un marqueur fluorescent, en vue du tri des cellules éditées. Je travaille actuellement sur l'optimisation de l'insertion de l'ADN donneur et de l'enzyme, en variant le format (plasmide ou ARNm) et les quantités transfectées. En parallèle, toujours dans le cadre des thérapies BAR-B, je travaille sur la production et validation d'un Ac bispécifique (biscFv), calqué sur l'Ac thérapeutique Mim8, qui mime la fonction du facteur de coagulation VIII (déficient au cours de l'hémophilie A). À partir d'un vecteur d'expression je produis ce biscFv dans les lignées cellulaires CHO et HEK, puis j'évalue sa présence par ELISA, Western Blot, PCR, RT-PCR, et sa fonction par test de fibrinoformation en collaboration avec le CHU de Rennes.

Production of polyspecific antibodies by genetic editing of B lymphocytes

Remis à NT. Conservé pendant 3 ans

B Lymphocyte, Bar-B Therapie, Knock In, BiscFv, Optimisation

My final internship takes place in Rennes in the Inserm/EFS team 'BIGReS' (U1236 Mobidic). It is dedicated to the genome editing of B lymphocytes (LB). These complex immune cells have multiple functions: antigen presentation, cytokine production, participation in immune memory and differentiation into antibody-producing plasma cells (Ab). These properties have led the team to initiate the project "B-cell Antibody-Releasing Biotherapies" (BAR-B), aimed at collecting LB from a patient, genetically modifying them, then reinjecting them for the sustainable production of therapeutic Ab in vivo. One of the challenges of this approach is the efficient insertion of DNA into the genome of human LB. To facilitate it, I am developing the use of serine recombinases, enzymes of bacterial origin capable of inserting long DNA sequences in a site-specific and oriented manner, without the need for double strand breaks. Thus, I designed and validated the plasmids necessary for the insertion steps. By CRISPR/Cas9 strategy, I then carried out a first step of integration into the genome of a "landing site" conducive to subsequent insertions. This site is associated with a reporter gene, encoding a fluorescent marker, for the sorting of edited cells. I am currently working on optimizing the insertion of donor DNA and enzyme, by varying the format (plasmid or mRNA) and the transfected quantities. In parallel, still within the framework of BAR-B therapies, I am working on the production and validation of a bispecific Ab (biscFv), modeled on the therapeutic Ab Mim8, which mimics the function of coagulation factor VIII (deficient during hemophilia A). From an expression vector, I produce this biscFv in the CHO and HEK cell lines, then I evaluate its presence by ELISA, Western Blot, PCR, RT-PCR, and its function by fibrinoformation test in collaboration with the CHU of Rennes.

DIONYMER

PESSAC ● FRANCE

Tuteur(s) / Supervisor(s) : Simon PELLETIER

3/24/2025 → 9/5/2025

Développement et optimisation d'un procédé de culture d'une souche productrice de PHA en bioréacteur.

Development and optimization of a culture process for PHA production in bioreactors.

Rapport confidentiel
Soutenance confidentielle

Détruit après soutenance par le rapporteur

Camille BREUZIN

FISE Cbi

Polyhydroxyalcanoates, Fermentation, Polymères biodégradables, Bioplastiques, Bioproduction, Economie circulaire.

De nos jours, les problématiques sanitaires et environnementales qui découlent de l'utilisation des matières plastiques conventionnelles poussent la société à chercher des alternatives. Parmi elles, les bioplastiques sont de plus en plus étudiés pour s'affranchir du pétrole en utilisant des matières premières renouvelables et réduire la pollution plastique. Notamment, les polyhydroxyalcanoates (PHA) sont une grande famille de polymères biosourcés et biodégradables pouvant être produits par plus de 300 microorganismes différents et stockés sous la forme de corps d'inclusion. Leurs applications sont multiples dans les emballages, les revêtements, l'agriculture mais aussi la formulation de cosmétiques, le médicale et les textiles. Cependant, leur coût de production reste jusqu'à 15 fois plus élevé que celui des polymères pétro-sourcés. En France, la start-up bordelaise dionymer fait le pari de l'économie circulaire en produisant des PHA par fermentation de déchets organiques. Elle est scindée en deux sites, un site de R&D où a été réalisé ce projet de fin d'étude et un site pilote récemment mis en oeuvre. Ainsi, ce projet consiste à optimiser le procédé de fermentation de dionymer pour augmenter les rendements et la productivité tout en réduisant les coûts de production et l'impact environnemental. En particulier, le projet a consisté en la mise en oeuvre et le suivi de bioréacteurs de 2L selon différentes thématiques : (i) simplifier le milieu de culture de dionymer, (ii) identifier l'effet dose de l'ajout d'extraits riches dans le milieu, (iii) tendre vers un procédé continu de culture, (iv) faciliter le scale-up entre l'échelle laboratoire et l'échelle pilote.

Polyhydroxyalkanoates, Fermentation, Biodegradable polymers, Bioplastics, Bioproduction, Circular economy.

Nowadays, health and environmental issues resulting from the use of conventional plastics materials urge society to find solutions. Among them, bioplastics are more and more studied to reduce the use of petroleum and plastic pollution. For instance, polyhydroxyalkanoates (PHA) constitute a broad family of bio-based and biodegradable polymers. They can be produced by more than 300 different microorganisms and stored as inclusion bodies. PHA can be used in a variety of applications such as packaging, surfacing, farming, cosmetics, medical and textile. However, production costs of PHA are still up to 15 times higher than those of petroleum-based polymers. In France (Bordeaux), the start-up dionymer works on PHA production from organic waste in its R&D site in which this end-of-study project takes place, and its semi-industrial site. This project aims to optimize the fermentation process of dionymer to improve yields and productivity as well as reducing costs and environmental impacts. Specifically, the project consists of building and running 2L bioreactors to: (i) simplify dionymer's culture medium, (ii) identify dose-effects of rich extracts addition in the medium, (iii) design a continuous process, (iv) facilitate scale-up from laboratory to pilot scale.

Faustine BRISEUX-LOIRE

FISE Mobilité S9

CINABIO — **TOULOUSE ● FRANCE**

Tuteur(s) / Supervisor(s) : Julien LACOMBE — **2/3/2025 ⟶ 7/31/2025**

Développement de la plateforme Talaromyces versatilis - Production et sécrétion de protéines hétérologues

Rapport confidentiel
Soutenance confidentielle

Ingénierie des souches, Biologie moléculaire, Transformation, Edition génomique, Optimisation génétique, Champignon filamenteux, Sécrétion protéique

Dans un contexte de transition vers des systèmes durables et de limitation des ressources, l'efficience alimentaire - soit l'optimisation du rapport entre production animale et aliments ingérés - devient un enjeu majeur. Son amélioration repose notamment sur une meilleure digestibilité et l'ajout d'additifs telles que les enzymes, qui facilitent l'assimilation des nutriments par l'animal. Adisseo s'inscrit dans cette démarche en développant, entre autres, des micro-organismes génétiquement modifiés capables de produire ces composés. L'un des projets du centre de recherche et d'innovation vise à développer la plateforme de production Talaromyces versatilis, un champignon filamenteux. Aujourd'hui utilisé à l'échelle industrielle pour la production d'un cocktail commercial d'enzymes endogènes, ce champignon fait l'objet de travaux d'amélioration continue pour induire par des modifications génomiques la production et la sécrétion de peptides d'intérêt. La volonté actuelle est plus particulièrement d'étendre ses capacités de production à des protéines hétérologues, et c'est dans ce contexte que s'inscrit ce projet de fin d'études dont l'objectif est d'arriver à produire et sécréter des protéines modèles dans la plateforme Talaromyces versatilis (phase I), puis d'optimiser cette production (phase II). Lors de la première phase, deux protéines modèles ont été testées, et celle présentant la meilleure production et une caractérisation plus simple a été retenue pour la suite. Le parcours d'une protéine, de la transcription de son gène à sa sécrétion extracellulaire, repose sur une régulation fine impliquant de nombreux gènes. Dans la seconde phase du projet, trois stratégies d'optimisation ont alors été mises en oeuvre : (1) la surexpression de gènes régulateurs clés par ajout de copies supplémentaires ; (2) l'inactivation ciblée de gènes limitants par knock-out via une technique d'édition génomique ; (3) l'insertion précise du gène d'intérêt par recombinaison homologue dans un locus favorable à l'expression.

Development of the Talaromyces versatilis platform - Production and secretion of heterologous proteins

Détruit après soutenance par le rapporteur

Strain engineering, Molecular biology, Transformation, Genome editing, Genetic optimization, Filamentous fungus, Protein secretion

In a context of transition toward sustainable systems and resource limitation, feed efficiency - defined as the optimization of the ratio between animal production and feed intake - has become a major issue. Its improvement relies in particular on better digestibility and the use of additives such as enzymes, which facilitate nutrient assimilation by the animal. Adisseo is actively involved in this approach by developing, among other things, genetically modified microorganisms capable of producing such compounds. One of the projects from the Research and Innovation Center focuses on developing the production platform Talaromyces versatilis, a filamentous fungus. Now used at the industrial scale to produce a commercial cocktail of endogenous enzymes, this fungus is continuously being improved through genomic modifications to induce the production and secretion of peptides of interest. The current goal is to expand its production capabilities to heterologous proteins. It is in this context that this final-year project was carried out, with the objective of producing and secreting model proteins using the Talaromyces versatilis platform (Phase I), followed by the optimization of this production (Phase II). In the first phase, two model proteins were tested, and the one with the best production level and simplest characterization was selected for further development. The journey of a protein, from gene transcription to extracellular secretion, relies on tightly regulated steps involving numerous genes. In the second phase of the project, three optimization strategies were implemented: (1) the overexpression of key regulatory genes through the addition of extra copies; (2) the targeted inactivation of limiting genes via knock-out using a genome editing technique; (3) the precise insertion of the gene of interest by homologous recombination into a locus favorable for expression.

Louisa BRUEL

FISE

CELYAD ONCOLOGY SA — **MONT-SAINT-GUIBERT ● BELGIQUE**

Tuteur(s) / Supervisor(s) : Caroline LONEZ — **2/24/2025 ⟶ 8/29/2025**

Sélection d'un shRNA ciblant l'endoribonucléase Regnase-1 et son impact sur l'activité de cellules CAR-T

Rapport confidentiel
Soutenance confidentielle

CAR-T, Regnase-1, shRNA, downregulation, screening

Avec près de 10 millions de morts par an, le cancer est la deuxième cause de mortalité dans le monde.
Une des pistes pour le traitement est l'utilisation des lymphocytes T génétiquement modifiés possédant un chimeric antigen receptor (CAR), les CAR-T. Avec 7 thérapies approuvées par la FDA, les CAR-T ont pu faire leur preuve, mais uniquement pour les tumeurs liquides. Les tumeurs solides, qui représentent 90% des cancers, posent de nombreux défis rendant l'efficacité des CAR-T amoindrit. La principale étant le micro-environnement tumoral (TME), qui, par différents mécanismes, réduit la réponse du système immunitaire de même que les CAR-T.
Plusieurs stratégies ont été proposées pour réduire l'épuisement et augmenter l'efficacité des CAR-T. Une option intéressante est de cibler l'endoribonucléase Regnase-1. Cette protéine dégrade les ARNm suite à la fixation de leur boucle 3'UTR, permettant la régulation de l'expression d'un grand nombre de protéines, dont l'interleukine (IL)-6 ou Regnase-1, elle-même. Dans des études préliminaires, il a été démontré qu'un knock-out (KO) de Regnase-1 dans des cellules CAR-T réduit l'épuisement, augmente l'efficacité et la réponse après une seconde exposition aux cellules cancéreuses.
L'objectif de mon stage est de réduire la production (knock-down, KD) de Regnase-1 dans les CAR-T grâce à des short-hairpin RNA (shRNA) et de vérifier l'impact fonctionnel sur leurs réponses. Cela s'est fait avec la plateforme MultimiR de Celyad Oncology. Cette plateforme réduit la synthèse de protéines cibles grâce aux shRNA qui sont incorporés dans des échafaudages des micro RNA (miRNA).
Dans un premier temps, j'ai sélectionné des séquences pouvant être utilisées comme shRNA puis j'ai réalisé un screening pour sélectionner la meilleure. Par la suite, j'ai développé et réalisé des tests de fonctionnalité pour vérifier que le KD a bien eu un impact positif sur le phénotype et l'efficacité des CAR-T.

Selection of an shRNA targeting the endoribonuclease Regnase-1 and its impact on the activity of CAR-T cells

Détruit après soutenance par le rapporteur

CAR-T, Regnase-1, shRNA, downregulation, screening

The number of deaths linked to cancer approaches 10 millions per year, making cancer the second cause of death worldwide.
A possible treatment is the use of genetically modified T cells, engineered to express a chimeric antigen receptor (CAR), and hence called CAR-Ts. There are currently 7 CAR-T therapies approved by the FDA, but all for hematological indications. No CAR-T therapy, however, is currently available for solid tumors, although they represent 90% of cancer cases. This is largely due to the tumoral micro-environment (TME), which, through several mechanisms, dampens the efficiency of the patients' immune system and of the CAR-Ts alike. Several strategies have been proposed to reduce the exhaustion and increase the efficacy of CAR-Ts. An appealing possibility is to target the endoribonuclease Regnase-1. This protein binds the stem-loop in 3'UTR of mRNAs and leads to their degradation, thus regulating the expression levels of various proteins, such as Interleukin (IL)-6 or Regnase-1 itself. In previous studies, knock-out (KO) of Regnase-1 in CAR-T cells reduced the exhaustion, improved the efficacy and the response after a second exposition to cancer cells.
The aim of my internship was to downregulate the expression of Reganse-1 in CAR-Ts by means of a short-hairpin RNA (shRNA) technology and determine the impact on the CAR-Ts. This was achieved through the MultimiR platform developed by Celyad Oncology. This platform exploits shRNAs embedded into micro-RNA (miRNA) scaffolds to regulate protein expression levels. First, I designed and screened candidate shRNA sequences targeted against Regnase-1 and I selected the best one. Then, I developed and applied the necessary functional assays to verify the positive impact of Regnase-1 downregulation on CAR-T phenotype and efficacy.

Valentine CASTILLON

CP

LILLY FRANCE SAS — **NEUILLY-SUR-SEINE ● FRANCE**

Tuteur(s) / Supervisor(s) : Philippe PALAZUELO — **10/1/2024 ⟶ 10/31/2025**

Evaluation de l'impact de la lumière sur la qualité des médicaments fabriqués sur le site de Fegersheim

Rapport confidentiel
Soutenance non confidentielle

Lumière, Instrumentation, Collaboration, Stratégie de contrôle, Biomolécules

Eli Lilly & Company veille à la qualité, à l'efficacité et à la sécurité de ses produits. À Fegersheim, où sont fabriqués des anticorps monoclonaux et des protéines thérapeutiques, l'exposition à la lumière constitue potentiellement un facteur de dégradation à maîtriser. Les biomolécules, sensibles à la lumière, peuvent perdre en pureté. Or, la lumière est difficile à mesurer en raison de ses caractéristiques physiques et des limites de l'instrumentation actuelle.
Dans ce contexte, mon projet d'alternance vise à améliorer le contrôle de ce risque. J'ai piloté l'acquisition d'un nouvel appareil de mesure, plus fiable et conforme aux exigences du site. J'ai également traité les non-conformités liées à l'ancien équipement, préparé les protocoles de mesure à venir en optimisant la méthodologie associée. Enfin, j'ai rédigé un document de référence interne regroupant les études menées sur l'exposition à la lumière. Il centralise les connaissances et facilite l'élaboration de futures stratégies de contrôle.
Ce travail contribue à une meilleure maîtrise de l'impact de la lumière tout au long du processus de fabrication du produit.

Evaluation of the impact of light on the quality of medicines manufactured at the Fegersheim site

Détruit après soutenance par le rapporteur

Light, Instrumentation, Collaboration, Control Strategy, Biomolecules

Eli Lilly & Company ensures the quality, efficacy, and safety of its products. In Fegersheim, where monoclonal antibodies and therapeutic proteins are manufactured, light exposure is a potential degradation factor that must be controlled. Biomolecules, which are sensitive to light, can lose their purity. However, light is difficult to measure due to its physical characteristics and the limitations of current instrumentation.
In this context, my apprenticeship project aims to improve the control of this risk. I led the acquisition of a new measuring device that is more reliable and compliant with the site's requirements. I also addressed non-conformities related to the previous equipment and prepared upcoming measurement protocols by optimizing the associated methodology. Finally, I wrote an internal reference document compiling the studies conducted on light exposure. This document centralizes knowledge and facilitates the development of future control strategies.
This work contributes to better control of light's impact throughout the product manufacturing process.

Emma
CAUCHOIS

FISE Mobilité S9

BIOASTER - UNITE TECHNOLOGIQUE BIMOP

PARIS ● FRANCE

Tuteur(s) / Supervisor(s) : Benoit BEITZ

4/10/2025 ⟶ 10/10/2025

Optimisation des modèles cellulaires pour un organe sur puce de type plateforme Blood-on chip pour réaliser de l'immuno-monitoring -

Rapport non confidentiel
Soutenance non confidentielle

Blood-on-chip, Co-culture cellulaire, Réponse immunitaire aux adjuvants, Immunomonitoring, Cytométrie en flux, Microsystème, PBMC

Face à la nécessité d'améliorer la prédiction des réponses immunitaires aux vaccins chez l'Homme et de réduire l'utilisation des animaux de laboratoire, les technologies Organ-on-Chip se développent comme des outils prometteurs pour stimuler des environnements physiologiques. Dans ce contexte, le projet Blood-on-chip a pour objectif de développer un système in vitro, mimant la zone de vaccination intra-musculaire, afin d'étudier de manière contrôlée l'effet d'adjuvants vaccinaux et/ou d'antigène en utilisant des cellules primaires humaines.
Au sein de l'équipe multidisciplinaire BIMOP de BIOASTER qui conçoit des technologies innovantes en microfluidique, optique et immunomonitoring pour le diagnostic et la recherche dans le domaine de la santé humaine. Mon stage s'inscrit dans un projet visant à développer et optimiser un modèle de co-culture de cellules musculaires et de cellules endothéliales (HUVEC) primaires sur inserts Transwell, dans le but d'étudier l'effet d'adjuvants sur le modèle et en présence de cellules immunitaires, PBMC (cellules mononucléées du sang périphérique). L'objectif est de développer un modèle in vitro standardisé, reproductible et fonctionnel permettant d'évaluer les signaux inflammatoires générés par les tissus stimulés, ainsi que la réponse immunitaire induite, d'abord off-chip puis de le transférer en modèle on-chip.
L'objectif de ce projet consiste dans un premier temps à caractériser les cultures de cellules, musculaires et endothéliales, puis de déterminer les conditions de co-culture. Une fois la co-culture établie, il s'agira d'analyser l'activation des HUVEC à la suite d'une stimulation du côté musculaire, puis d'évaluer la réponse immunitaire des PBMC introduits du côté endothélial. Les stimulations du modèle seront réalisées à l'aide de différents stimulants, de type agoniste, récepteur TLR et cytokines. La réponse du système sera évaluée par la mesure de l'intégrité de la barrière épithéliale/endothéliale (analyse TEER, Perméabilité apparente), l'analyse de l'activation des HUVEC par l'expression d'ICAM-1, ainsi que l'étude de la réponse immunitaire cellulaire et humorale avec l'analyse des cytokines secrétées par le système. Selon les résultats obtenus en système off-chip, l'objectif est de le transférer dans un système on-chip, du genre Mimetas ou in-house chip PDMS.
En conclusion, ce projet s'inscrit dans la recherche de mise au point d'un modèle de co-culture fonctionnel off-chip constituant une étape complémentaire avant son intégration dans un dispositif microfluidique on-chip, afin d'ouvrir la voie à de nouvelles approches de prédiction et de compréhension des effets des adjuvants vaccinaux sur les cellules humaines.

Optimization of cellular models for an organ-on-chip platform of the Blood-on-Chip type for immunomonitoring purposes.

A remettre au tuteur présent ou à l'élève lors de la soutenance.

Blood-on-Chip, Cellular Co-culture, Immune Response to Adjuvants, Immunomonitoring, Flow Cytometry, Microsystem, PBMC

Given the need to improve predictions of the human immune responses to vaccines and to reduce the use of laboratory animals, Organ-on-Chip technologies are emerging as promising tools for recreating in vitro physiological environments. In this context, the Blood-on-Chip project aims to develop a system that mimics the intramuscular vaccination site, in order to study in a controlled manner, the effect of vaccine adjuvants and/or antigens using primary human cells.
BIMOP is a multidisciplinary team within BIOASTER which designs innovative technologies in microfluidics, optics, and immunomonitoring for diagnostics and research in the field of human health. Integrating this team, my internship is part of a project of the Blood-on-Chip project and aims at developing and optimizing a co-culture model of primary muscle and endothelial cells (HUVEC) on porous membrane cell culture inserts, to study the effect of adjuvants on the model in the presence of blood-derived immune cells, specifically PBMCs (peripheral blood mononuclear cells). The goal is to develop a standardized, reproducible, and functional in vitro model to evaluate the inflammatory signals generated by stimulated tissues, as well as the induced immune response, first in an off-chip system and then to transfer it into an on-chip model.
As a first step, we will characterize the cultures of muscle and endothelial cells, to determine the optimal co-culture conditions. Once the co-culture is established, we will analyze the activation of HUVECs following stimulation on the muscle side, and then evaluate the immune response of PBMCs introduced on the endothelial side. The model will be stimulated using various immunostimulants, such as TLR receptor agonists and cytokines. The system's response will be assessed by measuring the integrity of the epithelial/endothelial barrier (TEER analysis, apparent permeability), looking at activation markers of the cellular models, such as ICAM-1 on HUVEC, and studying the cellular and humoral immune response by analyzing the cytokines secreted by the system or using flow cytometry. Based on the results obtained in the off-chip system, the objective is to transfer it to an on-chip system, such as a Mimetas device or an in-house PDMS chip.
In conclusion, this project is part of a research effort to develop a functional off-chip co-culture model, representing a complementary step before its integration into a microfluidic on-chip device, with the aim of enabling new approaches for predicting and understanding the effects of vaccine adjuvants on human cells.

Margot CHRISTIN

FISE Mobilité S9

DIONYMER — **PESSAC ● FRANCE**

Tuteur(s) / Supervisor(s) : Antoine BREGE — **2/3/2025 ⟶ 7/31/2025**

R&D en recyclage des effluents de fermentation

Rapport confidentiel
Soutenance confidentielle

Environnement ; Innovation ; Economie circulaire ; Fermentation ; PHA ; Filtration ; Purification ; R&D; DSP ; Recyclage; Bioprocédé

Mon stage au sein de l'équipe R&D en Down Stream Process de Dionymer porte sur le recyclage des effluents de fermentation. Dionymer est une start-up innovante qui développe un biopolymère biodégradable, produit par fermentation bactérienne. Le produit final appartient à la famille des PHA et présente des applications variées, notamment en cosmétique, emballage ou impression 3D. La startup vise à offrir une alternative durable aux plastiques issus de la pétrochimie, répondant ainsi à des enjeux majeurs actuels tels que la dépendance aux ressources fossiles et l'accumulation de plastique dans l'environnement. De plus, le processus de fermentation fonctionne à partir de déchets de l'industrie agroalimentaire, ce qui permet de valoriser des ressources inutilisées. La chimie circulaire et le développement durable sont donc au coeur des valeurs de l'entreprise.
Mon projet de stage porte sur l'optimisation du recyclage des effluents issus de la fermentation. L'objectif est de réutiliser jusqu'à 70 % du milieu de culture pour plusieurs cycles de production, afin de réduire les coûts et l'impact écologique. Pour cela, j'ai travaillé à identifier les composants biologiques posant problème au recyclage (composés inhibiteurs, carences, accumulation de sous-produits) grâce à la mise en place d'analyses spécifiquement adaptées au moût de fermentation. J'ai participé à la réalisation de cycles de fermentations répétées pour évaluer les performances du procédé recyclé et déterminer les limites d'utilisation. Enfin, j'ai testé différentes méthodes de purification et de prétraitement, notamment par ultrafiltration tangentielle, réalisées soit en interne soit à l'aide de prestataire.?
Ce stage m'a permis d'approfondir mes compétences en bioprocédés, en méthodes analytiques et en gestion de projet, tout en m'impliquant dans une démarche concrète de développement durable et d'innovation.

R&D on Fermentation Effluent Recycling

Détruit après soutenance par le rapporteur

Environment ; Innovation ; Circular economy ; Fermentation ; PHA ; Filtration ; Purification; R&D ; DSP ; Recycling ; Bioprocess

My internship within the R&D team in Downstream Process at Dionymer focuses on the recycling of fermentation effluents. Dionymer is an innovative start-up developing a biodegradable biopolymer produced through bacterial fermentation. The final product belongs to the PHA family and has various applications, including cosmetics, packaging, and 3D printing. The start-up aims to provide a sustainable alternative to petrochemical plastics, therefore addressing major current issues such as our dependence on fossil resources and the plastic accumulation in the environment. In addition, the fermentation process uses waste from the food industry, valorizing unused resources. Circular chemistry and sustainable development are therefore at the core of the company's values.
My project focuses on optimizing the recycling of the fermentation medium. The goal is to reuse up to 70% of the culture medium over multiple production cycles to reduce costs and environmental impact. For this, I worked on identifying the biological factors causing issues with recycling (growth inhibitors, nutrients deficiencies, accumulation of by-products) by implementing specific analyses adapted to the fermentation broth. I participated in repeated fermentation cycles to evaluate the performance of the recycled process and to define the limits. Finally, I tested some purification and pretreatment methods, in particular tangential flow ultrafiltration, carried out either in-house or thanks to external service providers.
This internship allowed me to strengthen my skills in bioprocessing, analytical methods, and project management, while actively contributing to a concrete approach to sustainable development and innovation.

Zoé
CLAIREAUX

FISE Mobilité S9

IMMUSMOL

BORDEAUX ● FRANCE

Tuteur(s) / Supervisor(s) : Alban BESSEDE

3/3/2025 ⟶ 8/22/2025

Identification des voies de résistance à la chimiothérapie dans le cancer du pancréas via une approche d'édition génique CRISPR

Rapport confidentiel
Soutenance confidentielle

Culture cellulaire, CRISPR, Cancer du pancréas, Cytométrie en flux, Lentivirus, Marquage

L'adénocarcinome canalaire pancréatique (PDAC) est un des cancers les plus agressifs et les plus meurtriers au monde. Il est la 6e cause de mortalité due au cancer dans le monde avec 467 409 morts en 2022 et il est prévu qu'il devienne la deuxième d'ici 2030. En raison d'un diagnostic souvent tardif, la majorité des patients atteints du PDAC sont inopérables et la principale option de traitement est la chimiothérapie. Toutefois, la résistance à la chimiothérapie représente aujourd'hui un des principaux freins à l'amélioration de la survie des patients.
Une étude de transcriptomique spatiale sur des échantillons de patients a mis en évidence la surexpression d'un gène spécifique chez les patients résistants à la chimiothérapie par rapport aux patients qui sont plus sensibles.
L'objectif de ce stage est d'explorer le rôle de cette protéine dans la résistance à la chimiothérapie à l'aide d'un modèle in vitro de cancer du pancréas. Dans un premier temps, le profil dose réponse à la chimiothérapie sera établi sur différentes lignées cellulaires de cancer du pancréas. Les cellules seront ensuite transduites avec un lentivirus permettant la surexpression de la protéine d'intérêt par édition génique CRISPRa. Le niveau d'expression de la protéine d'intérêt sera évalué par cytométrie end flux, à la fois sur les cellules parentales ainsi que sur les cellules modifiées. Enfin, une nouvelle évaluation de la sensibilité à la chimiothérapie sera réalisée sur ces deux types de cellules afin d'évaluer le rôle de la protéine dans la sensibilité à la chimiothérapie.

Identification of chemotherapy resistance pathways in pancreatic cancer via a CRISPR gene-editing approach

Détruit après soutenance par le rapporteur

Cell culture, CRISPR, Pancreatic cancer, Flow cytometry, Lentivirus, Labeling

Pancreatic ductal adenocarcinoma (PDAC) is one of the world's most aggressive and lethal cancers. It is the 6th leading cause of cancer mortality worldwide, with 467,409 deaths in 2022, and is expected to become the second leading cause by 2030. Due to an often-late diagnosis, the majority of PDAC patients are inoperable, and the main treatment option is chemotherapy. However, resistance to chemotherapy now represents one of the most limiting obstacles in patients' survival. A spatial transcriptomics study on patient samples revealed the overexpression of a specific gene in chemotherapy-resistant patients compared to patients who are more sensitive.
The aim of this internship is to explore the role of this protein in chemotherapy resistance in an in vitro model of pancreatic cancer. Firstly, the dose-response profile of different cell lines to chemotherapy will be established. Cells will then be transduced with a lentivirus allowing the overexpression of the protein of interest by CRISPRa gene editing. The level of expression of the protein of interest will be assessed by flow cytometry on both parental and modified cells. Lastly, a new evaluation of chemotherapy sensitivity will be carried out on these two cell types to assess the role of the protein in chemotherapy sensitivity.

Emma
COUTANT

FISA

UNITHER DEVELOPPEMENT BORDEAUX

LE HAILLAN ● FRANCE

Tuteur(s) / Supervisor(s) : Julien BARTHE

9/11/2023 → 9/26/2025

Mise en place d'une analyse de risque de type AMDEC pour un procédé de répartition aseptique pour la fabrication de solutions ophtalmiques stériles

Rapport non confidentiel
Soutenance non confidentielle

Analyse de risques AMDEC, Assurance Qualité, Production, Procédé de répartition aseptique, sSolutions ophtalmiques stériles

L'un des procédés de production de solutions ophtalmiques stérile est le procédé de répartition aseptique. Globalement, ce procédé consiste en la stérilisation de la formulation via un système de filtration, puis en sa répartition dans un environnement permettant de garantir la stérilité, comme un isolateur par exemple. Une haute maîtrise de ce type de procédé est essentielle : une défaillance à n'importe quelle étape du procédé peut avoir des conséquences irréversibles sur la stérilité du produit, et, in fine, mettant en danger le patient.
La maîtrise des procédés passe notamment par la mise en place d'analyses de risques (ADR). L'ADR est un outil clé, fréquemment employé dans l'industrie pharmaceutique et reconnu par les instances réglementaires. Il s'agit d'un document collaboratif, mobilisant différents services comme la production, l'assurance qualité ou encore le contrôle qualité. La méthode d'Analyse des Modes de Défaillances, de leurs Effets et de leur Criticité (AMDEC), est l'une des méthodes de construction d'ADR les plus utilisées en industrie. L'ADR par méthode AMDEC permet d'avoir une vue d'ensemble des opérations, de mieux anticiper les potentielles défaillances et de définir les moyens de mitigations associés. Cet outil permet une meilleure maitrise du procédé.

Implementation of a FMEA-type risk analysis for an aseptic process for the manufacture of sterile ophthalmic solutions

Remis à NT. Conservé pendant 3 ans

FMEA risk analysis, Quality assurance, Production, Aseptic distribution process, Sterile ophthalmic solutions

One process for producing sterile ophthalmic solutions is the aseptic process. Basically, this involves sterilizing the formulation via a filtration system, then filling it in an environment designed to ensure sterility such as an isolator. A high level of control over this type of process is essential: failure at any stage of the process can have irreversible consequences on the sterility of the product, and ultimately endanger the patient.
Process control involves, in particular, the implementation of risk analysis. Risk analysis are a key tool, frequently used in the pharmaceutical industry and recognized by regulatory bodies. It is a collaborative document, involving various departments such as production, quality assurance and quality control. The Failure Modes, Effects and Criticality Analysis (FMEA) method is one of the most widely used methods for constructing risk analysis in industry. The FMEA method provides an overall view of operations, enabling us to better anticipate potential failures and define associated mitigation measures. This tool provides better process control.

Agathe
DEBRIS-CAFORT

FISE Mobilité S9

ITERG - INSTITUT DES CORPS GRAS

CANEJAN ● FRANCE

Tuteur(s) / Supervisor(s) : Lou BERNARD

2/10/2025 ⟶ 7/25/2025

Évaluation de l'Impact Environnemental de Procédés Biotechnologiques

Rapport confidentiel
Soutenance confidentielle

ACV, procédé industriel, fermentation, enzyme, champignon filamenteux, DSP, impacts environnementaux, bilan matière/énergie.

Mon PFE se déroule à l'Institut Technique et de Recherche sur les corps Gras (ITERG), en particulier au sein de l'Unité Environnement et Eco-Industrie (UEEI). La mission de cette unité est d'accompagner ses partenaires industriels, académiques et les pouvoirs publics dans l'évaluation de la performance environnementale de leur procédé et dans leur conception de produits éco-responsables.
Problématique?:
Pour quantifier les impacts environnementaux potentiels d'un procédé, l'UEEI emploie des outils tels que l'Analyse de Cycle de Vie (ACV). Cette méthodologie fait appel au bilan matière et énergie d'un procédé donné. Pour le modéliser dans le logiciel spécifique ACV (Simapro), on utilise un panel de données disponibles dans des bases de données spécifiques aux ACV comme Agribalyse ou encore EcoInvent. Ces dernières sont bien fournies pour procéder à des ACV sur des procédés chimiques mais peinent à permettre la réalisation d'ACV pour des procédés biotechnologiques. Agrémenter la base de données interne d'ITERG devient indispensable pour lui permettre d'accompagner des entreprises biotech souhaitant réaliser des ACV.
Ma mission principale est donc de constituer une bibliothèque de données représentatives de procédés biotechnologiques (USP et DSP) employés dans la production et/ou la transformation de corps gras végétaux.
Activité principale?:
Le procédé USP et DSP choisi est la production, purification et formulation d'une lipase triacylglycérol nommée CalB (Candida antartica lipase B). Cette enzyme est utilisée à l'échelle industrielle, en particulier pour réaliser des réactions de transestérification. Une grande partie de mon stage a été occupée par le design du procédé industriel, notamment il m'a fallu déterminer la stratégie de fermentation et les opérations unitaires ciblées en DSP. Cette étape s'est reposée sur les données disponibles dans la littérature. Après modélisation du procédé et calcul des impacts, il m'a fallu interpréter les résultats de l'ACV (identifier les étapes du procédé ayant le plus d'impacts sur l'environnement et les potentielles causes).

Environmental Impact Assessment of Biotechnological Processes

Détruit après soutenance par le rapporteur

LCA, industrial process, fermentation, enzyme, filamentous fungus, DSP, environmental impacts, material/energy balance.

My Final-Year-Project is taking place at the Institut Technique et de Recherche sur les corps Gras (ITERG), in particular within the Environment and Eco-Industry Unit (UEEI). The mission of this unit is to support industry partners, academic teams and public authorities in the evaluation of the environmental performance of their products and processes and in the design of eco-responsible products.
Aim :
To quantify the environmental impacts of a process, the UEEI uses tools such as Life Cycle Assessment (LCA). This methodology relies on the material and energy balance of a given process. To model the process in the LCA software (Simapro), one uses existing datas available in specific LCA databases such as Agribalyse or EcoInvent. These databases are well-supplied for LCAs of chemical processes, but datas for LCAs of biotechnological processes are scarce. Hence, to supplement ITERG's internal database is essential to meet the needs of biotech companies wishing to carry out LCAs.
My main mission is to build up a library of representative data on biotechnological processes (USP and DSP) used in the production and/or transformation of vegetable fats.
Main activity :
The chosen USP and DSP process is the production, purification and formulation of a triacylglycerol lipase called CalB (Candida antartica lipase B). This enzyme is used on an industrial scale, in particular for transesterification reactions. A large part of my internship was taken up with the design of the industrial process, especially determining the fermentation strategy and the targeted unit operations in DSP. This stage was based on data available in the literature. After modelling the process and calculating the impacts, I had to interpret the LCA results (identify the process stages with the greatest environmental impacts and their potential causes).

IMMUSMOL

BORDEAUX ● FRANCE

Tuteur(s) / Supervisor(s) : Alban BESSEDE

3/10/2025 ⟶ 8/29/2025

Développement et validation d'un immuno-essai pour quantifier le GABA dans le plasma de patients

Development and validation of an immunoassay for the quantification of GABA in patient plasma

Camille DEGREZ

FISE Mobilité S9

Rapport confidentiel
Soutenance confidentielle

Détruit après soutenance par le rapporteur

GABA, plasma, immuno-essai, anticorps, conjugué, développement

Avec le développement croissant des immunothérapies pour le traitement des cancers, l'identification de biomarqueurs capables de prédire la réponse des patients à ces traitements devient essentielle. L'acide gamma-aminobutyrique (GABA), principalement reconnu pour son rôle de neurotransmetteur inhibiteur dans le système nerveux central, où il réduit l'excitabilité neuronale, suscite aujourd'hui un nouvel intérêt. En effet, des données récentes suggèrent que le GABA pourrait également influencer la croissance tumorale ainsi que la réponse immunitaire antitumorale.
La mesure de la concentration plasmatique de GABA chez les patients atteints de cancer pourrait ainsi constituer un outil précieux pour anticiper leur réponse à l'immunothérapie.
Dans ce contexte, l'entreprise ImmuSmol, spécialisée dans le développement d'anticorps et d'immuno-essais permettant la détection et la quantification de petites molécules comme les neurotransmetteurs et les acides aminés, s'est engagée dans le développement d'un test spécifique.
ImmuSmol commercialise déjà un test ELISA, développé en partenariat, permettant de doser le GABA dans l'urine, où sa concentration est naturellement élevée. Toutefois, ce test ne permet pas une quantification fiable dans le plasma, où les concentrations en GABA sont plus faibles, typiquement comprises entre 150 et 500 nM.
Dans un premier temps, l'objectif a donc été de développer un test ELISA sensible et spécifique, capable de détecter le GABA à des concentrations aussi basses que 50 à 100 nM, afin de permettre le dosage dans le plasma des patients. Par la suite, les essais de performance requis pour valider cet immuno-essai ont été réalisés.

GABA, plasma, immunoassay, antibody, conjugate, development

With the growing development of immunotherapies for cancer patients, it is essential to identify biomarkers capable of predicting response to these treatments. Gamma-aminobutyric acid (GABA) is primarily known for its role as an inhibitory neurotransmitter in the central nervous system, where it reduces neuronal excitability. Today, new data suggest that GABA may also play a role in tumor growth and antitumor immunity. Measuring GABA concentration in the plasma of cancer patients could therefore help anticipate their responses to treatment. ImmuSmol is a company specialized in the development of antibodies and immunoassays designed to visualize and quantify small molecules, including neurotransmitters and amino acids, using a conjugation method. ImmuSmol already markets an ELISA test for measuring GABA which was developed by a partner. This test enables quantification of GABA only in urine, where its concentration is sufficiently high, but not in plasma, where GABA levels typically range between 150nM and 500nM. Initially, the objective was to develop a GABA test with a sensitivity of 50-100nM, specific to the molecule, in order to measure GABA levels in plasma samples. Subsequently, performance tests necessary for the validation of the immunoassay were carried out.

Txomin
DOLHEGUY

FISA

MERCK BIODEVELOPMENT

MARTILLAC ● FRANCE

Tuteur(s) / Supervisor(s) : Angéline RODRIGUES-ANTUNES

9/4/2023 ⟶ 9/26/2025

Mise en place d'une matrice d'analyse de risque procédé adaptée à l'activité de transfert de technologie

Rapport confidentiel
Soutenance confidentielle

Assurance Qualité, Transfert de technologie, Norme ICH Q9, Méthodologie AMDEC, SOP

La maîtrise de la qualité et la gestion des risques font par essence partie des grands challenges de l'industrie pharmaceutique. Ces notions sont décrites et cadrées par de nombreuses normes réglementaires et se doivent d'être intégrées par tout un chacun dans les pratiques du quotidien. Dans un contexte pharmaceutique industriel, le transfert de technologie (TT) peut être défini comme une procédure logique cadrant le transfert d'un procédé accompagné de sa documentation et de son expertise, entre une unité de développement et une unité de production, ou entre différents sites de production. Au sein de Merck Biodevelopment (MBD), de nombreux documents participent au déploiement effectif d'une telle stratégie, avec des analyses de risques permettant de mettre en évidence, pour chaque étape, les principaux risques retrouvés et les moyens de mitigation associés. Toutefois, les critères, les scores et la matrice utilisés dans la documentation peuvent être optimisés pour mieux s'adapter à une activité de TT. L'enjeu de ce travail de PFE a donc été la mise en place d'une matrice de risque procédé adaptée à l'activité de TT.

Implementation of a Process Risk Analysis Matrix adapted to technology transfer activities

Détruit après soutenance par le rapporteur

Quality Assurance, Technology transfer, ICH Q9 Guideline, FMEA Methodology, SOP

Quality control and risk management are inherently among the major challenges of the pharmaceutical industry. These concepts are described and framed by numerous regulatory guidelines and must be integrated into daily practices by everyone. In an industrial pharmaceutical context, technology transfer (TT) can be defined as a logical procedure framing the transfer of a process along with its documentation and expertise, between a development unit and a production unit or between different production sites. At Merck Biodevelopment (MBD), numerous documents contribute to the effective deployment of such a strategy, with risk analysis highlighting the main risks identified at each stage and the associated mitigation plan. However, the criteria, scores and matrix used in the documentation can be optimized to better suit TT activities. The aim of this project was therefore to implement a process risk matrix adapted to TT activities.

Amandine DUBOS

CP

BYORNA

VERRIÈRES-LE-BUISSON ● FRANCE

Tuteur(s) / Supervisor(s) : Lucie GRINDES

10/1/2024 ⟶ 9/29/2025

Développement de vecteurs d'expression pour la production d'ARNm thérapeutiques en levures

Rapport confidentiel
Soutenance confidentielle

ARNm, Levures, Plasmides, qPCR, Clonage

L'ARNm est aujourd'hui un candidat à grand intérêt dans de nombreuses biothérapies. A ce jour, il est principalement produit in vitro, avec des méthodes coûteuses et présentant des limites, notamment de taille des ARNm. bYoRNA développe un procédé de production d'ARN via des cellules de levures, qui permettra la production d'ARNm à moindre coût, et sans les limites des procédés in vitro.
Mon projet au sein de bYoRNA est d'optimiser le procédé de production dans le but d'augmentation de la productivité en ARNm d'intérêt et d'améliorer la pureté des ARNm d'intérêt.
La première étape consiste en l'identification d'éléments de régulation de l'expression des ARNm. Des étapes de clonages moléculaires sont effectuées afin de générer un panel de vecteurs d'expression avec les différents éléments de régulation identifiés. Ensuite, des transformations en levures sont réalisées pour obtenir un panel de souches de levures. Puis, les différentes souches sont mises en culture afin de comparer la productivité en ARNm et la pureté des ARNm selon les vecteurs qu'elles contiennent. Les ARNm produits sont ensuite extraits afin de réaliser des tests de comparaison des activités transcriptionnelles et des quantifications. Une analyse des résultats de ces tests permet de comparer les niveaux d'expression pour chaque vecteur d'expression. Ainsi, les vecteurs permettant une productivité et une pureté optimale des ARNm d'intérêt sont identifiés. Une dernière étape consiste en une étude de la stabilité d'expression des ARNm produits dans les différentes conditions de l'étude.
Ce projet est polyvalent et inclut l'utilisation de nombreuses techniques de laboratoire : clonage moléculaire, PCR, transformation bactérienne, production et purification de plasmides, transformation et cultures de levures, extraction d'acides nucléiques, RT-qPCR, Western-blot, cytométrie, microscopie. Il inclut aussi des étapes de recherche bibliographique, de rédaction de documents techniques (protocoles, rapports), de développement de méthodes, d'analyse et de présentation de résultats.

Development of expression vectors for production of therapeutic mRNA by yeast cells

Détruit après soutenance par le rapporteur

mRNA, Yeast, Plasmids, qPCR, Cloning

mRNA is currently a highly interesting candidate for numerous biotherapies. As of today, it is mostly produced in vitro, thanks to techniques that are costly and present some limits, including the size of the mRNA produced. bYoRNA is developing a process to produce mRNA using yeast cells. This process will allow a low cost production of mRNA, without the limits of the in vitro processes.
My project within bYoRNA is to optimize the production process, with the aim to increase the productivity of the mRNA of interest, as well as to improve its purity.
The first step consists in the identification of regulatory elements of the mRNA expression in yeast. Steps of molecular cloning are then conducted in order to obtain a pool of expression vectors, containing the different expression vectors previously identified. After this, yeast cells are transfected with the vectors to obtain a pool of yeast strains. Then, the different strains are cultivated, which allows a comparison of the productivity in mRNA, and of the purity of the mRNA, depending on the vector the strains contain. After this, the mRNA obtained is extracted from the cells, in order to perform tests of comparison of transcriptional activities, and quantification. Analyzing the results of these tests is directly allowing the comparison of the expression levels for each expression vector. Thus, the vectors allowing the best productivity and purity of the mRNA of interest are identified. A last step consists in a stability study of the mRNA expression, in the different conditions of the study.
This project is pluridisciplinary and includes the performance of various laboratory techniques : molecular cloning, PCR, bacterial transformation, plasmid production and purification, yeast transfection and cultivation, nucleic acids extraction, RT-qPCR, Western-Blot, cytometry, microscopy. It also includes bibliography research, writing of technical documents (protocols, reports), development of methods, analysis and presentation of results.

Joseph DUSSAULT

CP Cbi

ENGIE CRIGEN — **STAINS ● FRANCE**

Tuteur(s) / Supervisor(s) : Charlotte RICHARD

10/7/2024 ⟶ 9/26/2025

Optimisation de la digestion anaérobie: étude de l'impact des nanoparticules de fer

Rapport confidentiel
Soutenance confidentielle

Digestion anaérobie, Nanoparticules de fer, Méthane, Biogaz, Valorisation des déchets

Dans un contexte de transition énergétique et de croissance de la filière biogaz, ce travail s'inscrit dans le cadre des recherches menées par ENGIE Lab CRIGEN pour améliorer les performances de la digestion anaérobie (DA). L'étude porte sur l'effet de l'ajout de nanoparticules de fer (Fe? et Fe?O?), dans des conditions expérimentales reproduisant au mieux les réalités industrielles. Les essais en batch réalisés en 2024 ont permis d'évaluer l'impact de différentes formes de fer selon leur taille, état d'oxydation et concentration. L'ajout d'un mélange de nanoparticules de fer oxydé et non oxydé améliore significativement la production de méthane et réduit la formation de H?S. À partir de ces données, une méthodologie de surface de réponse (RSM) a été appliquée pour optimiser la concentration et le ratio entre les deux types de nanoparticules. Ces conditions ont ensuite été testées dans des réacteurs CSTR de 10 L pour simuler un fonctionnement en continu. L'efficacité des ajouts est déterminée en comparant les performances de méthanisation de réacteurs supplémentés et non supplémentés en nanoparticules (production et qualité du biogaz, concentrations en ammonium et acides gras volatiles, pH, etc.). Une modélisation dynamique viendra compléter l'étude.Ce projet vise in fine à valider le potentiel des nanoparticules de fer pour une application industrielle en digestion anaérobie, tout en évaluant les implications technico-économiques d'un tel procédé.

Optimization of Anaerobic Digestion: Study of the Impact of Iron Nanoparticles

Détruit après soutenance par le rapporteur

Anaerobic digestion, Iron nanoparticles, Methane, Biogas, Waste valorization

In the context of energy transition and growing interest in the biogas sector, this project is part of ENGIE Lab CRIGEN's research aimed at enhancing Anaerobic Digestion (AD) efficiency. The study focuses on the impact of iron nanoparticles (Fe? and Fe?O?), under experimental conditions closely aligned with industrial settings. 2024 batch experiments investigated the effect of iron forms, considering particle size, oxidation state, and concentration. Supplementation of both oxidized and non-oxidized iron nanoparticles significantly enhanced methane production while reducing hydrogen sulfide formation. A response surface methodology (RSM) was then applied to determine the optimal concentration and ratio between Fe? and Fe?O?. These optimized conditions were tested in 10 L CSTRs to simulate continuous operation. The supplementation effects is determined by comparing the anaerobic digestion performance of reactors supplemented or not with nanoparticles (biogas production and quality, ammonium and volatile fatty acid concentrations, pH, etc.). Dynamic modeling will complete the study.
This work ultimately aims to validate the industrial applicability of iron nanoparticles in AD and to evaluate the process's techno-economic feasibility.

Ghinwa
EL KURDI

FISE

ID BIO SAS - GROUPE SEQENS

LIMOGES ● FRANCE

Tuteur(s) / Supervisor(s) : Cédric CHEVALIER

3/31/2025 ⟶ 9/26/2025

Identification des pistes d'amélioration et optimisation du procédé de fabrication de l'albumine bovine.

Rapport confidentiel
Soutenance confidentielle

Diagnostic in vitro, albumine de sérum bovin, spécifications, purification, optimisation, conformité, paramètres du procédé, leviers d'amélioration.

La BSA (Bovine Serum Albumin) est la protéine plasmatique bovine majoritaire, essentielle à la réalisation de tests de diagnostic in vitro. SEQENS IVD la purifie de l'ensemble des protéines plasmatiques par un processus de choc thermique. Elle est commercialisée en solution et sous forme lyophilisée. Pour les marchés les plus exigeants, les caractéristiques de la solution ou du produit lyophilisé ne correspondaient pas aux attentes, et les produits concurrents étaient préférés. Pour permettre le développement de ses ventes, SEQENS IVD a souhaité améliorer son procédé de purification pour atteindre les standards les plus élevés du marché. Le projet a commencé par une comparaison précise des spécifications actuelles à celles des principaux concurrents permettant de définir un cahier des charges pour la BSA dite « Premium ». Une évaluation globale de la conformité des lots de BSA lyophilisés produits entre fin 2020 et début 2025 a été réalisée permettant de définir la capabilité du procédé à atteindre les cibles définies dans le cahier des charges. Les paramètres relevés de cette étude étaient la teneur en protéine, en immunoglobulines, en endotoxines et la pureté du produit, paramètres qui n'atteignaient pas systématiquement les spécifications du cahier des charges. Pour chacun de ces paramètres, des études supplémentaires ont été menées afin de déterminer les causes de variabilités du procédé. Le point de blocage sur la pureté a été résolu, cependant sur les trois paramètres restants les recherches sont en cours. Des conclusions sur les pistes d'amélioration ont été établies afin d'atteindre les objectifs définis.

Improvement tracks identification and optimization of bovine serum albumin production process.

Détruit après soutenance par le rapporteur

In vitro diagnostic, bovine serum albumin, specifications, purification, optimization, compliance, process parameters, improvement tracks.

The Bovine Serum Albumin is the major protein in the Bovine plasma, essential for IVD (In Vitro Diagnostic) tests. At SEQENS IVD it is purified and separated from the rest of plasmatic proteins by "Heat Shock". It is commercialized in solution and lyophilized form. For the strictest markets, the characteristics of the final product could not meet the requirements, so the competitor's products were preferred. Owing to developing sales, SEQENS IVD wanted to improve its purification process to reach the highest standards in the market. Thus, the project began with a precise comparison between SEQENS's and the competitors' BSA specifications and permitted defining new ones for the so called "Premium" BSA. A global compliance evaluation on batches produced between the end of 2020 and the beginning of 2025 has been done to determine the process capability to reach the new specifications. Thanks to this study it was concluded that the critical parameters to be improved were protein, Ig, endotoxin contents and purity. For each one, research and trials have been done to find the causes of process variability. The solution was found for purity, however, for the three remaining parameters, research is ongoing. Improvement tracks have been identified to reach the goals.

Jeremie GELABALE

CP

FERMENTALG — **LIBOURNE ● FRANCE**

Tuteur(s) / Supervisor(s) : Rodrigo RANGEL

10/1/2024 ⟶ 9/26/2025

Optimisation d'un procédé de production d'oméga-3 par une microalgue hétérotrophe

Rapport confidentiel
Soutenance confidentielle

Microalgue, Fermentation , Lipides, Oméga-3, Optimisation, Bioprocédé, Biomasse, Croissance, Rendement

Mon projet de fin d'études s'est inscrit dans la stratégie d'innovation de Fermentalg. Celui-ci visait à améliorer un bioprocédé de production d'oméga-3 à partir de microalgues, en vue d'une industrialisation à grande échelle et d'une imminente introduction sur les marchés internationaux de la nutrition et de la santé. Les sources traditionnelles d'oméga-3, telles que les huiles de poisson, présentent de nombreuses limites. Elles contribuent à la surpêche et à l'épuisement des stocks, sont vulnérables à la pollution des milieux marins, et génèrent une forte empreinte carbone. Leur qualité est donc variable, et leur coût dépend fortement des fluctuations du marché. Pour répondre à ces enjeux, Fermentalg développe une alternative microalgale durable, traçable et de haute qualité. Cette solution vise à satisfaire la demande croissante, tout en respectant les spécifications des marchés ciblés et en s'inscrivant dans un modèle économique circulaire. Ainsi, le projet a consisté à optimiser un procédé de fermentation hétérotrophe à l'échelle laboratoire, dans l'objectif d'augmenter les rendements en biomasse et en lipides, tout en maintenant un profil en acides gras adapté. Ce procédé devait également garantir robustesse, stabilité, reproductibilité, sécurité et capacité de passage à l'échelle pilote puis industrielle. Une attention particulière a notamment été portée à la maîtrise des conditions de préculture, à l'amélioration continue de la composition du milieu de culture, ainsi qu'à la réduction de l'impact environnemental du procédé. Ces efforts s'inscrivent dans un cadre exigeant de qualité et d'éthique, avec un objectif constant de conformité aux standards internationaux, incluant les certifications halal, casher et végane.

Optimization of an Omega-3 Production Process by a Heterotrophic Microalgae

Détruit après soutenance par le rapporteur

Microalgae, Fermentation, Lipids, Omega-3, Optimization, Bioprocess, Biomass, Growth, Yield

Aligned with Fermentalg's strategic focus on innovation, this final-year project aimed to optimize a microalgal omega-3 production bioprocess, with a view toward large-scale industrial deployment and subsequent entry into global nutrition and health markets. Traditional omega-3 sources, particularly fish oils, suffer from numerous limitations: they contribute to overfishing and stock depletion, are exposed to marine pollution, and carry a high carbon footprint. Moreover, their quality is inconsistent, and their price is subject to market volatility. In response, Fermentalg is developing a sustainable, traceable, and high-quality microalgal alternative capable of meeting growing demand while fulfilling strict market specifications and aligning with circular economy principles. The project focused on the optimization of a heterotrophic fermentation process at the laboratory scale, with the goal of maximizing biomass and lipid yields while preserving a desirable fatty acid profile. The process was designed to ensure robustness, stability, reproducibility, safety, and scalability to pilot and industrial levels. Key areas of development included the precise control of preculture conditions, continuous refinement of culture medium composition, and reduction of the process's environmental footprint. All efforts were carried out under stringent quality and ethical frameworks, with constant attention to compliance with international standards, including halal, kosher, and vegan certifications.

Anaïs
GLOUMEAU

FISE Mobilité S9

NAMSA - PRECLINICAL RESEARCH

CHASSE SUR RHÔNE ● FRANCE

Tuteur(s) / Supervisor(s) : Julie URRUTIGOITY

2/3/2025 → 8/1/2025

Assistante Directeur d'Etudes au sein du département in vivo R&D

Rapport confidentiel
Soutenance confidentielle

Dispositif médical, Etude préclinique, Modèle animal, Cicatrisation, Implantation intra-osseuse, Recherche et Développement

J'ai réalisé mon stage de fin d'études chez NAMSA (North American Scientific Associates), une CRO accréditée ISO 17025 et certifiée BPL, spécialisée dans l'évaluation préclinique des dispositifs médicaux. Durant six mois, j'ai assuré les missions d'Assistante Directeur d'Etudes au sein du département in vivo R&D. J'ai pris part à des études règlementaires BPL et des études pilotes non-BPL sur divers types de dispositifs médicaux (cicatrisation, hémostase, orthopédie, cardio-vasculaire), divers modèles animaux (rat, lapin, porc, mouton) et divers modes d'implantation (sous-cutané, intra-osseux, des plaies cutanées).
J'ai participé à la planification de l'étude, à la communication avec les clients, à la rédaction de protocoles, à la gestion du bon déroulement des phases expérimentales (chirurgie, suivi et fins d'études), à l'analyse et vérification des données brutes et à la rédaction et vérification des rapports finaux, tout en veillant au respect des règles d'éthique et de qualité.
J'ai décidé de développer deux études auxquelles j'ai participé afin de présenter de manière globale les missions qui m'ont été confiées :
- Une étude de cicatrisation portant sur un dispositif médical innovant, appliqué par pistolet sous forme liquide, qui se solidifie au contact de la plaie pour former une matrice afin de favoriser le processus de cicatrisation.
- Une étude d'implantation intra-osseuse au niveau crânial visant à évaluer l'impact sur les tissus locaux des caractéristiques de surface et des techniques d'implantation de trois composants d'un implant auditif crânien.

Assistant Study Director in the in vivo R&D department

Détruit après soutenance par le rapporteur

Medical device, Preclinical study, Animal model, Wound healing, Intraosseous implantation, Research and Development

I completed my final-year internship at NAMSA (North American Scientific Associates), an ISO 17025 accredited and GLP-certified CRO specialized in the preclinical evaluation of medical devices. For six months, I held the position of Assistant Study Director within the in vivo R&D department. I participated in GLP-compliant regulatory studies as well as non-GLP pilot studies involving various types of medical devices (wound healing, hemostasis, orthopedics, cardiovascular), different animal models (rat, rabbit, pig, sheep), and multiple implantation methods (subcutaneous, intraosseous, cutaneous wounds).
I was involved in study planning, client communications, protocol drafting, coordination of experimental phases (surgery, monitoring, study termination), raw data analysis and verification, as well as the drafting and review of final reports, all while ensuring compliance with ethical and quality standards.
I chose to highlight two studies I contributed to in order to illustrate the scope of my responsibilities:
- A wound healing study involving an innovative medical device delivered via spray gun in liquid form, which solidifies upon contact with the wound to form a matrix promoting the healing process.
- An intraosseous cranial implantation study designed to evaluate the impact on local tissues of the surface characteristics and implantation techniques of three components of a cranial auditory implant.

Victor
GRANET-ANTON

FISE Mobilité S9

EVONIK (SEA) PTE LTD — **138567 ● SINGAPOUR**

Tuteur(s) / Supervisor(s) : Dhivya DADLANI — **3/3/2025 ⟶ 8/29/2025**

Modélisation in vitro des interactions entre la peau humaine et le microbiome pour l'évaluation des ingrédients cosmétiques

Rapport confidentiel
Soutenance non confidentielle

Culture cellulaire, peau 3D, modèle in vitro, hydrogel, microbiologie, microbiome, caractérisation, identification, qPCR, densité optique

L'objectif du stage est de développer un modèle cutané 3D in vitro reproduisant fidèlement la structure (épiderme et derme) et la composition microbiologique d'une peau humaine saine. Ce modèle intègre un microbiome cutané représentatif, composé de cinq espèces bactériennes commensales courantes, et vise à servir de plateforme pour l'évaluation d'ingrédients cosmétiques ou dermatologiques susceptibles d'influencer le microbiome cutané.
Le projet se divise en deux phases principales. La première consiste à fabriquer un modèle cutané biomimétique à partir d'une matrice d'hydrogel et à co-culturer des fibroblastes et des kératinocytes dermiques humains afin de reconstruire le derme et l'épiderme. La seconde phase se concentre sur la croissance et la caractérisation des espèces bactériennes sélectionnées. J'ai cultivé ces micro-organismes en milieux liquide et solide, préparé des stocks de glycérol et évalué leur cinétique de croissance par des mesures de DO600. Pour vérifier l'identité et la pureté, j'ai réalisé une qPCR, et il est prévu d'utiliser la cytométrie de flux pour évaluer la viabilité bactérienne.
L'étape finale consiste à coloniser le modèle cutané 3D avec le microbiote caractérisé afin d'établir un écosystème microbien stable et reproductible. Ce modèle de microbiome cutané peut ensuite être utilisé pour tester l'impact des composés actifs sur la santé cutanée, offrant ainsi une alternative plus pertinente et éthique aux tests sur les animaux.

In vitro modeling of human skin and microbiome interactions for cosmetic ingredient evaluation

Détruit après soutenance par le rapporteur

Cell culture, 3D skin, in-vitro model, Hydrogel, Microbiology microbiome, characterization, identification, qPCR, optical density

The objective of the internship is to develop a 3D in vitro skin model that closely mimics both the structure (epidermis and dermis) and the microbiological composition of healthy human skin. This model integrates a representative skin microbiome consisting of five common commensal bacterial species and aims to serve as a platform for evaluating cosmetic or dermatological ingredients that may influence the skin microbiome.
The project is divided into two main phases. The first involves the fabrication of a biomimetic skin model using a hydrogel matrix and the co-culture of human dermal fibroblasts and keratinocytes to reconstruct the dermis and epidermis. The second focuses on the growth and characterization of the selected bacterial species. I cultured these microorganisms in both liquid and solid media, prepared glycerol stocks, and assessed their growth kinetics via OD600 measurements. To verify identity and purity, I performed qPCR, and it is planned to use flow cytometry to evaluate bacterial viability.
The final stage involves the colonization of the 3D skin model with the characterized microbiota to establish a stable, reproducible microbial ecosystem. This skin-microbiome model can then be used to test the impact of active compounds on skin health, providing a more physiologically relevant and ethical alternative to animal testing.

Elise GUTIERREZ

FISE

EVF OPERATIONS — **NEUVILLE-SUR-SAONE ● FRANCE**

Tuteur(s) / Supervisor(s) : David CHRISTIN — **2/17/2025 ⟶ 8/14/2025**

Continuité de production en environnement pharmaceutique digitalisé

Rapport non confidentiel
Soutenance non confidentielle

Production pharmaceutique, continuité, dossiers de lot, procédés de fabrication, analyse de risques, gestion des données critiques, usine digitalisée

Les avancées technologiques de notre époque conduisent à la conception de bâtiments de production modernes, intégrant des solutions digitales innovantes. Un exemple de cette évolution est le nouveau site de production de Sanofi, Modulus. Ce bâtiment, dédié à la fabrication de vaccins, se distingue par sa capacité unique à produire simultanément plusieurs vaccins, en s'appuyant exclusivement sur des technologies à usage unique et des outils numériques. Cependant, dans un environnement entièrement digitalisé, une question essentielle se pose: comment garantir la qualité des produits pharmaceutiques en cas de défaillance des systèmes digitaux ?
Ce PFE s'intéresse à cette problématique dans le cadre spécifique de la production sur paillasse de milieux et de solutions utilisés pour un procédé de vaccin à ARN messager. L'objectif est d'élaborer un plan de continuité d'activité permettant de maintenir la production malgré une interruption du système d'assistance numérique à l'exécution.
Pour répondre à ce défi, plusieurs conditions doivent être réunies. Premièrement, le procédé de production doit être parfaitement maîtrisé, tout en étant dans un contexte de lancement de bâtiment, dans un environnement sujet aux modifications. De plus, la réglementation de l'industrie pharmaceutique et les bonnes pratiques de fabrications doivent continuer à être respectées pendant la mise en place du mode dégradé. Les données critiques du processus de fabrication doivent être identifiées, sécurisées et conservées. Enfin, un dossier de lot au format papier doit être rédigé, complet et facilement utilisable par les techniciens afin de pouvoir collecter les données.
Ce mode de fonctionnement dégradé doit assurer la continuité de la production tout en préservant la qualité du produit, mais également permettre, une fois les outils digitaux rétablis, la reconstitution fidèle du dossier de lot électronique afin de garantir la traçabilité complète et la conformité réglementaire du produit fini.

Business Continuity in a Digitalized Pharmaceutical Environment

Remis à NT. Conservé pendant 3 ans

Pharmaceutical production, Manufacturing processes, Risk analysis, Critical data management, Batch records, Business continuity, Digital building

Technological advances have led to the design of modern production facilities that incorporate innovative digital solutions. An example of this evolution is Sanofi's new production building, Modulus. This revisionary building, dedicated to vaccine production, stands out for its unique capability to produce four different types of vaccines simultaneously, relying exclusively on single-use technologies and digital tools. However, in a fully digitalized environment, a critical question arises: ow can the quality of pharmaceutical products be ensured in the event of a digital system failure?
This project addresses this issue within the specific context of bench scale production of media and buffers used in an mRNA vaccine process. The aim is to create a business continuity plan that allow production to continue despite the unavailability of the digital execution support system.
To achieve this, several conditions must be fulfilled. First, the production process must must be fully mastered, even in the context of a facility launch, where the environment is still subject to frequent changes. Futhermore, pharmaceutical industry regulations and good manufacturing practices must continue to be respected during the implementation of the continuity plan. Then, the process's critical data must be identified, secured and preserved. Laslty, a written batch file must be created, completed and easily used by technicians.
This downgraded operating mode must not only ensure production continuity while preserving product quality, but also enable the faithful reconstitution of the electronic batch record once the digital tools have been re-established, in order to guarantee full traceability and compliance with regulatory requirements of the finished product.

Coraline GUYARD

FISA

SANOFI PASTEUR

MARCY L'ÉTOILE ● FRANCE

Tuteur(s) / Supervisor(s) : Alejandro GONZALEZ TORRES

9/11/2023 ⟶ 9/26/2025

Optimisation de la détection des ARNdb et évaluation de l'impact de l'extrémité 3' de l'ADN template sur le contenu en ARNdb généré pendant l'IVT

Rapport confidentiel
Soutenance confidentielle

ARNm - Transcription in vitro - ARNdb - Méthode de détection - ADN matrice

Les vaccins ARNm sont composés de nanoparticules lipidiques et d'ARNm synthétisé par transcription in vitro (IVT) à partir d'une matrice d'ADN. Pendant l'IVT, des sous-produits indésirables comme l'ARN double brin (ARNdb) sont générés. Ces ARNdb peuvent être reconnus par les récepteurs cellulaires de reconnaissance de motifs (PRRs), déclenchant une réponse immunitaire innée préjudiciable à l'efficacité du vaccin. Actuellement, la détection des ARNdb repose sur une méthode ELISA sandwich qui est chronophage, coûteuse et inefficace pour détecter les nucléotides modifiés couramment utilisés dans la production d'ARNm par IVT.
Le premier objectif de mon PFE vise à étudier l'interaction entre les protéines cellulaires de liaison à l'ARN double brin (dsRBPs) et différents ARNdb. Cette étude d'affinité permettrait de sélectionner des protéines pouvant servir de biosenseurs pour le développement de nouvelles méthodes de détection et/ou de purification des ARNdb.
Par ailleurs, les mécanismes de formation des ARNdb pendant l'IVT restent mal compris. La structure de l'extrémité 3' de la matrice d'ADN utilisée pour l'IVT pourrait jouer un rôle. Cet ADN peut être préparé de différentes manières : linéarisation d'un plasmide (pour la production à grande échelle) ou amplification PCR (pour la production à haut débit) d'un fragment d'ADN contenant des extrémités 3' franches ou cohésives. Mon second objectif est d'étudier l'influence de cette extrémité 3' sur la production d'ARNdb et de comparer les ARNdb générés par plasmides linéarisés ou produits PCR. Ces études pourraient aider à définir le meilleur processus de synthèse d'ARNm en minimisant la formation d'ARNdb tout en réduisant les étapes de production et les coûts.
J'ai utilisé de nombreuses techniques de biologie moléculaire (conception d'amorces, PCR, IVT, quantification et purification d'acides nucléiques) pour accomplir ces objectifs.

Optimization of dsRNA detection and evaluation of the impact of DNA template 3'end on dsRNA-IVT content

Détruit après soutenance par le rapporteur

mRNA - In vitro transcription - dsRNA - detection method - DNA template

mRNA vaccines are composed of lipid nanoparticles and mRNA synthesized by in vitro transcription (IVT) from a DNA template. During the IVT reaction, undesirable by-products such as double-stranded RNA (dsRNA) are generated. These dsRNAs can be recognized by cellular pattern recognition receptors (PRRs), triggering an innate immune response detrimental for vaccine efficacy. Currently, dsRNA detection relies on a sandwich ELISA method using commercial antibodies specific to dsRNA. This approach has several drawbacks: it is time-consuming, expensive, and ineffective in detecting modified nucleotides commonly used in mRNA production by IVT. The first objective of my PFE aims to study the interaction between cellular double-stranded RNA binding proteins (dsRBPs) and different dsRNAs molecules. This affinity study would help to select potential proteins which can work as biosensors for the development of new methods for dsRNA detection and/or purification.
Furthermore, the mechanisms of dsRNA formation during IVT remain poorly understood. The structure of the 3' end of the DNA template used for IVT could play an important role. This DNA can be prepared by different ways: linearization of a plasmid (for large scale production) or PCR amplification (for high throughput production) of a DNA fragment containing blunt or cohesive 3' ends. The second objective of my PFE is to study the influence of the 3' end nature of the DNA template on dsRNA production during IVT. In parallel, dsRNA generated in IVT using linearized plasmid or PCR products were compared. These studies could help define the best mRNA synthesis workflow by minimizing dsRNA formation while reducing production steps and costs.
To carry out these two research axes, I used numerous molecular biology techniques (primer design, PCR, IVT, quantification and purification of nucleic acids).

Mélissa GUYOT

FISE

INRAE CLERMONT-ARA ST-GENES-CHAMPANELLE-

Tuteur(s) / Supervisor(s) : Grégory JUBELIN

Exploration de l'hétérogénéité phénotypique et de son rôle dans la virulence à l'échelle de la cellule unique de Citrobacter rodentium au cours d'une infection murine

Rapport non confidentiel
Soutenance non confidentielle

E. coli entérohémorragique (EHEC), E.coli entéropathogène (EPEC), hétérogénéité phénotypique, virulence, Citrobacter rodentium, single-cell, cytométrie en flux

Au cours des dernières années, les progrès techniques en mesures quantitatives à l'échelle de la cellule unique ont révélé qu'une population clonale n'est pas composée de cellules identiques. Le comportement individuel des bactéries peut varier, même dans un environnement homogène?: c'est l'hétérogénéité phénotypique. Ce phénomène joue un rôle crucial dans la capacité d'adaptation des bactéries. Nous faisons l'hypothèse que cette variabilité d'expression contribue à la colonisation efficace de l'hôte lors de l'infection. Escherichia coli, bactérie commensale du tube digestif humain, peut aussi être pathogène, comme les souches entérohémorragiques (EHEC) ou entéropathogènes (EPEC). Citrobacter rodentium, pathogène murin, est un modèle d'étude des infections intestinales humaines causées par les EPEC/EHEC. Ce travail vise à identifier les gènes de C. rodentium dont l'expression est hétérogène entre cellules, in vitro ou in vivo lors de l'infection. Pour cela, une banque de promoteurs a été construite par insertion aléatoire d'un transposon portant le gène codant la GFP, permettant de suivre l'activité transcriptionnelle à l'échelle unicellulaire. Des cycles successifs de culture et de tri cellulaire (FACS), alternant la sélection de cellules GFP? ou GFP?, ont permis d'enrichir la population en clones présentant une expression génique variable entre cellules. L'approche in vitro a révélé des gènes à expression hétérogène, caractérisés par cytométrie en flux. En parallèle, une approche in vivo par infection murine a été menée pour repérer les gènes exprimés de façon variable dans un contexte infectieux. Ces gènes serviront de base à des études fonctionnelles pour déterminer si l'hétérogénéité phénotypique et les gènes associés joue un rôle dans l'adaptation et la colonisation de l'hôte par C. rodentium, et par extension, par des pathogènes A/E comme les EPEC et EHEC.

SAINT-GENES-CHAMPANELLE ● FRANCE

3/3/2025 ⟶ 8/29/2025

Exploration o genetic variability and its role in virulence at the single cell level of Citrobacter rodentium during murine infection

Remis à NT. Conservé pendant 3 ans

Enterohaemorrhagic E. coli (EHEC), enteropathogenic E. coli (EPEC), phenotypic heterogeneity, Citrobacter rodentium, single-cel, flow cytometry

In recent years, technical advances in quantitative measurements at the single-cell level have revealed that a clonal population is not made up of identical cells. The individual behaviour of bacteria can vary, even in a homogeneous environment: this is phenotypic heterogeneity. This phenomenon plays a crucial role in the ability of bacteria to adapt. We hypothesise that this variability in expression contributes to the efficient colonisation of the host during infection. Escherichia coli, a commensal bacterium of the human digestive tract, can also be pathogenic, such as enterohaemorrhagic (EHEC) or enteropathogenic (EPEC) strains. Citrobacter rodentium, a murine pathogen, is a model for studying human intestinal infections caused by EPEC/EHEC. The aim of this work is to identify the C. rodentium genes whose expression is heterogeneous between cells, in vitro or in vivo during infection. To this end, a promoter library was constructed by random insertion of a transposon carrying the gene encoding GFP, making it possible to monitor transcriptional activity at the single-cell level. Successive cycles of cell culture and cell sorting (FACS), alternating the selection of GFP? or GFP- cells, allowed the population to be enriched in clones showing variable gene expression between cells. The in vitro approach revealed heterogeneously expressed genes, characterised by flow cytometry. At the same time, an in vivo approach using murine infection was carried out to identify genes expressed variably in an infectious context. These genes will serve as a basis for functional studies to determine whether phenotypic heterogeneity and associated genes play a role in host adaptation and colonisation by C. rodentium, and by extension, by A/E pathogens such as EPEC and EHEC.

Chloé HEINRICH

CP

GTP Bioways CDMO

TOULOUSE ● FRANCE

Tuteur(s) / Supervisor(s) : Frédéric BARNAY-TOUTAIN

10/1/2024 → 9/26/2025

Transfert et suivi du procédé de production d'une Master Cell Bank de Pichia pastoris

Rapport confidentiel
Soutenance non confidentielle

MCB, Transfert de technologie, Production, Croissance cellulaire, Investigation

Le projet porte sur la production d'une Master Cell Bank (MCB) de Pichia pastoris exprimant une protéine recombinante destinée au traitement des maladies inflammatoires chroniques de l'intestin.
Mon travail a consisté à transférer le procédé de production de la MCB à partir du procédé existant de la Research Cell Bank (RCB), en adaptant les paramètres et méthodes pour garantir la qualité, la robustesse et la reproductibilité du produit final.
J'ai également suivi les productions et mené l'investigation lors des problèmes rencontrés.
Lors de la production d'un premier lot, un arrêt prématuré de la croissance cellulaire a été constaté.
Après investigation, la cause racine a été attribuée à une concentration insuffisante en glucose, résultant d'une erreur dans la méthode de préparation du milieu : les peptones et le glucose étaient autoclavés ensemble, ce qui a provoqué une réaction de Maillard dégradant le glucose.
Des actions correctives ont alors été mises en oeuvre, notamment la séparation des composants du milieu avant autoclavage.
Malgré ces mesures, un arrêt prématuré de la croissance a de nouveau été constaté lors de la production du second lot.
Une nouvelle investigation approfondie, appuyée par des tests complémentaires, a permis d'écarter plusieurs hypothèses et d'identifier comme cause racine une sous-estimation de la densité optique utilisée pour le suivi de la croissance cellulaire.
Un troisième lot a été produit en appliquant un facteur de correction à la valeur de densité optique, déterminé lors d'un test, afin d'assurer le succès de la production et d'éviter toute récurrence de l'arrêt de la croissance.

Transfer and Monitoring of the Production Process of a Pichia pastoris Master Cell Bank

Détruit après soutenance par le rapporteur

MCB, Tech transfer, Production, Cell growth, Investigation

The project focuses on the production of a Master Cell Bank (MCB) of Pichia pastoris expressing a recombinant protein intended for the treatment of chronic inflammatory bowel diseases.
My work involved transferring the MCB production process from the existing Research Cell Bank (RCB) process, by adapting parameters and methods to ensure the quality, robustness, and reproducibility of the final product.
I also monitored the production runs and led investigations when issues arose.
During the production of a first lot, an early arrest in cell growth was observed.
After investigation, the root cause was identified as insufficient glucose concentration, resulting from an error in the medium preparation method: peptones and glucose had been autoclaved together, leading to a Maillard reaction that degraded the glucose.
Corrective actions were implemented, including separating the medium components before autoclaving.
Despite these measures, a premature growth arrest occurred again during the production of the second lot.
A new thorough investigation, supported by additional testing, ruled out several hypotheses and identified the root cause as an underestimation of the optical density used for the monitoring of cell growth.
A third lot will be produced, applying a correction factor to the optical density measurement-determined during testing-to ensure successful production and prevent recurrence of the growth arrest.

Amandine
HINOJOSA FONSECA

FISE Mobilité S9

BIOMERIEUX SA - Pharma Solutions R&D Services

CRAPONNE ● FRANCE

Tuteur(s) / Supervisor(s) : Caroline KASSIM

3/3/2025 ⟶ 8/29/2025

Etude de l'expression de biomarqueurs pour la caractérisation fonctionnelle des thérapies cellulaires : application aux cellules CAR-T

Rapport confidentiel
Soutenance confidentielle

CGT, thérapie cellulaire, cellules CAR-T, transcriptomique, fonctionnalité, marqueurs biologiques

Les thérapies cellulaires sont des médicaments de thérapie innovants, utilisant les cellules du patient, qui sont ou non modifiées génétiquement en laboratoire pour acquérir des propriétés fonctionnelles spécifiques avant réinjection. Parmi ces nouvelles thérapies, les cellules CAR-T (cellules T à récepteur antigénique chimérique) sont utilisées dans le traitement de certains cancers. A ce jour, sept thérapies CAR-T sont autorisées aux Etats-Unis, parmi lesquelles six ont également obtenu une autorisation de mise sur le marché en Europe. Plus de mille essais cliniques sont également en cours, ce qui témoigne de l'intérêt croissant pour cette approche thérapeutique innovante. Malgré ces avancées, l'efficacité clinique reste variable, avec des taux de réponse complète variant de 40 à 60 %. Afin de mieux comprendre ces variations, une caractérisation des produits de thérapies cellulaires avant injection, notamment dans leur fonctionnalité, est de plus en plus recherchée.
Dans ce contexte, bioMérieux souhaite évaluer la pertinence des approches transcriptomique pour la caractérisation de la fonctionnalité de produits cellulaires, en utilisant les cellules CAR-T comme preuve de concept. L'objectif du stage était d'identifier des marqueurs biologiques dont l'expression permettrait de refléter la fonctionnalité des cellules CAR-T. Une revue de la littérature a permis de sélectionner une centaine de gènes potentiellement pertinents, qui ont été soumis à un criblage par qPCR Taqman. L'analyse différentielle de l'expression génique entre cellules présentées ou non à l'antigène cible a permis d'identifier plusieurs gènes candidats, lesquels ont ensuite fait l'objet d'une validation fonctionnelle approfondie.

Investigation of biomarkers expression for functional characterization of cell-based therapies: application to CAR-T cells

Détruit après soutenance par le rapporteur

CGT, cell therapy, CAR-T cell, transcriptomic, functionality, biological markers

Cell-based therapies are innovative drug therapies, using the patient's own cells, which may or may not be genetically modified in the laboratory, to acquire specific functional properties before infusion. Among these new therapies, CAR-T cells (chimeric antigen receptor T cells) are used in the treatment of some cancers. Currently, seven CAR-T cell therapies have been FDA-approved in the USA, and six of these have also obtained marketing authorization in Europe. Approximately one thousand clinical trials are also underway, demonstrating the growing interest in this innovative therapeutic approach. Despite these advances, clinal effectiveness remains variable, with complete response rates ranging from 40% to 60%. To better understand these variations, characterization of cell therapy products prior to injection, particularly regarding their functionality, is increasingly sought after.
In this context, bioMérieux aims to evaluate the relevance of transcriptomic approaches for characterizing the functionality of cellular products, using CAR-T cells as proof of concept. The objective of the internship was to identify biological markers whose expression would reflect the functionality of CAR-T cells. A literature review was conducted to select a set of around one hundred potentially relevant genes, which were then screened by Taqman qPCR. Differential analysis of gene expression between cells exposed and unexposed to the target antigen led to the identification of several candidate genes, which were then subjected to in-depth functional validation.

Eléa HUAULME

FISE

NUTROPY

EVRY-COURCOURONNES ● FRANCE

Tuteur(s) / Supervisor(s) : Maya BENDIFALLAH

2/10/2025 → 8/8/2025

Développement d'une méthode de quantification à haut débit dans le but de tester l'expression de différents variants de la caséine.

Rapport confidentiel
Soutenance confidentielle

Protéine recombinante, fermentation de précision, fromage animal-free, purification, DoE, quantification.

Aujourd'hui, la production laitière représente 14.5% des GES (gaz à effet de serre) et 83% des terres agricoles sont utilisées pour l'industrie laitière. Dans ce contexte, Nutropy présente une alternative plus respectueuse de l'environnement par l'utilisation de la fermentation de précision pour produire de la caséine permettant de développer des fromages sans avoir recours à l'animal. Le projet vise à cribler des caséines capables d'obtenir un gel protéique fonctionnel, nécessaire à la fabrication du fromage. Pour cela, une méthode de quantification haut débit a été développée afin d'évaluer simultanément l'expression et la fonctionnalité de plusieurs variants protéiques. La purification d'affinité sur billes magnétiques, compatible avec l'automatisation et la parallélisation, a été choisie pour isoler les différents variants de la caséine à partir des lots de culture de fermentation. Un plan d'expérience (DoE) a été mis en place pour optimiser cette étape. La quantification est ensuite réalisée par dosage Bradford (méthode de dosage de protéine totale), d'où l'importance d'obtenir un échantillon pur. Malgré plusieurs optimisations (tampons, lyse, quantité de ligand, durée de l'étape de fixation), les résultats préliminaires montrent une faible fixation de la protéine, probablement liée à une mauvaise accessibilité du tag. Des tests sont en cours avec un tag offrant une plus forte affinité et la position des tag a également été testée, afin d'améliorer la purification et permettre la quantification fiable des variants les mieux exprimés.

Development of a high-throughput quantification method to test the expression of different casein variants.

Détruit après soutenance par le rapporteur

Recombinant protein, precision fermentation, animal-free cheese, purification, DoE, quantification.

Today, dairy production accounts for 14.5% of GHGs (greenhouse gases) and 83% of agricultural land is used for the dairy industry. Against this backdrop, Nutropy presents a more environmentally-friendly alternative using precision fermentation to produce casein that enable the development of cheese without the use of animals. The project aims to identify caseins capable of forming functional protein gels, necessary for cheese production. To achieve this, a high-throughput quantification method was developed to simultaneously assess the expression and functionality of several protein variants. Magnetic bead affinity purification, compatible with automation and parallelization, was chosen to isolate the different casein variants from fermentation cultures. A design of experiment (DoE) was set up to optimize this step. Quantification is then carried out by Bradford assay (total protein assay method), hence the importance of obtaining a pure sample. Despite several optimizations (buffers, lysis, quantity of resin, length of binding step), preliminary results show poor protein binding, probably linked to poor tag accessibility. Tests are underway with a tag offering higher affinity, and tag position has also been tested, to improve purification and enable reliable quantification of the most highly expressed variants.

Sylvain JAN

FISE

School of Chemical Engineering

ATHENS ● GRECE

Tuteur(s) / Supervisor(s) : Evangelos TOPAKAS

3/3/2025 → 9/3/2025

Découvertes de nouvelles enzymes pour la bioconversion des déchets plastiques

Rapport confidentiel
Soutenance confidentielle

Enzyme, Dégradation de polymères, Fungi, Bactéries, Fermentation, Expression et Caractérisation

Recherche de nouvelles enzymes capable de dégrader les chaines carbonées longues pour de potentielles applications à la dégradation de déchets plastiques. Exploration des pistes des fungi se développant naturellement en attaquant les chaines carbonnées longues des plantes et racines de plantes (cutine et suberine).

Discovery of novel enzymes for the conversion of plastic waste

Détruit après soutenance par le rapporteur

Enzyme, Polymers degradation, Fungi, Bacterias, Fermentation, Expression et Caracterisation

Research of novel enzymes able to degrade long carbon chains in order to apply it to the degradation of plastic waste. Focusing on Fungi that, in their natural states, develops by degradating long carbon chains on plants and on plants roots (cutin and suberin).

Léa
JAUD

FISE Mobilité S9

EXOTHERA

JUMET ● BELGIQUE

Tuteur(s) / Supervisor(s) : Tiago ALBANO

3/10/2025 ⟶ 8/29/2025

Développement de procédés de purification de vecteurs viraux

Rapport confidentiel
Soutenance confidentielle

Développement de procédés, AAV, adenovirus, clarification, chromatographie, TFF

Ces dernières années, les premiers traitements basés sur la thérapie génique ont été approuvés et mis sur le marché. Les vecteurs viraux sont la méthode la plus utilisée pour transporter le matériel génétique jusqu'aux cellules. Les adénovirus (AdVs) et les adeno-associated virus (AAVs) sont les vecteurs les plus répandus dans les essais cliniques. La production de ces vecteurs est complexe et rencontre différents problèmes. Améliorer les rendements et la pureté du produit en réduisant les coûts est un enjeu majeur du marché des thérapies géniques.
Exothera, une CDMO Belge, développe des procédés de production de vecteurs viraux pour répondre à ces préoccupations.
Dans le cadre de mon projet de fin d'études, j'ai rejoint l'équipe DSP d'Exothera afin de travailler sur différents projets de purification d'AAV et d'AdV. Exothera développe des plateformes de production comprenant des étapes de clarification, capture, polishing et formulation pour produire une Drug Substance (DS).
Un des enjeux de la production des AAV est la haute proportion de capsides ne contenant pas d'ADN. Ces capsides vides, considérées comme des impuretés, doivent être éliminés du produit final. Une faible différence de charges entre les capsides vides et pleines permet de les séparer par chromatographie d'échange d'ion. Pendant mon stage, j'ai travaillé sur l'optimisation de cette étape.
Un autre enjeu de la production de vecteurs viraux est la montée en échelle des procédés. J'ai ainsi effectué des opérations à l'échelle 10 litres pour purifier une récolte d'AAV, en suivant les protocoles de clarification, de capture et de formulation développés par Exothera.
Enfin, la formulation du produit final est essentielle pour éviter l'agrégation des vecteurs pendant leur stockage. J'ai ainsi mené une étude de stabilité sur cinq tampons de formulation d'AdV. Le but de cette étude était de déterminer une formulation permettant de conserver les propriétés du produit dans différentes conditions de stockage.

Development of viral vector purification processes

Détruit après soutenance par le rapporteur

process development, AAV, adenovirus, clarification, chromatography, TFF

In recent years, the first treatments for gene therapy have been approved and commercialized. Viral vectors are the most popular technique used to deliver genetic material into cells, with adenoviruses (AdVs) and adeno-associated viruses (AAVs) being the most used vectors in clinical trials. However, their production is complex and faces several challenges. Increasing yields and purity of the final products cost-effectively is one of the critical issues in the gene therapy market. Exothera, a Belgian contract development and manufacturing organization (CDMO), is working to develop production processes that address these challenges. As part of my End-of-Study project, I joined Exothera's Downstream Processing (DSP) team to work on several purification projects involving adeno-associated viruses and adenoviruses. They are developing AAV and AdV production platforms that comprise clarification, capture, polishing, and formulation to produce a final Drug Substance (DS). One of the most common challenges in AAV processes is the high number of empty capsids that do not contain DNA. These empty capsids are impurities that must be removed from the final product. A slight charge difference between full and empty capsids allows for their separation using ion exchange chromatography (polishing step). During my internship, I had the opportunity to work on the optimization of the polishing step.
Another common challenge is process scale-up. I conducted operations at 10-liter scale to purify an AAV harvest, following the clarification, capture, and formulation protocols developed by Exothera. Lastly, the final product formulation and buffer selection are key steps in preventing vector aggregation during storage. To address this, I conducted a stability study on five different formulation buffers for an AdV vector. The goal of this study was to evaluate the effectiveness of different formulation buffers in maintaining the properties of the product under several storage conditions.

Chiara JOURDAN

FISE

GROUPE BERKEM R&D 24680

GARDONNE ● FRANCE

Tuteur(s) / Supervisor(s) : Ombéline HANNEQUIN

2/10/2025 → 8/1/2025

Développement de modèles in vitro pour étudier l'impact de la pollution environnementale sur les dommages cutanés

Rapport confidentiel
Soutenance confidentielle

kératinocytes, HAP, pollution, cosmétique, stress oxydatif, inflammation

La peau, en tant qu'organe barrière, est quotidiennement exposée à de nombreux polluants atmosphériques. Parmi eux, les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) suscitent une attention particulière en raison de leurs propriétés mutagènes et cancérigènes. Ils sont connus pour induire un stress oxydatif et une réponse inflammatoire, contribuant ainsi au vieillissement prématuré de la peau et au développement de certaines pathologies cutanées. Face à ces enjeux, l'industrie cosmétique s'intéresse de plus en plus au potentiel des extraits végétaux pour limiter les effets néfastes de la pollution urbaine.
Ce travail s'inscrit dans le cadre des recherches menées par le Groupe Berkem visant à évaluer les propriétés anti-pollution de plusieurs actifs cosmétiques naturels sur un modèle cellulaire in vitro. Des kératinocytes humains primaires exposés à des HAP ont été utilisés afin de reproduire au mieux les effets des polluants sur l'épiderme.
L'objectif principal de ce travail a été la mise au point d'un protocole de quantification du stress oxydatif, basé sur la détection des espèces réactives de l'oxygène (ROS) dans les cellules à l'aide de sondes fluorescentes (DCFDA/H2DCFDA). De plus, des tests complémentaires ont été réalisés en lien avec le stress oxydatif généré par les polluants pour évaluer la viabilité cellulaire (test MTT), la réponse inflammatoire (dosage des cytokines par ELISA), ainsi que l'activité antioxydante globale (test DDPH) sur un modèle acellulaire. L'ensemble de ces approches vise à établir un panel de tests d'efficacité permettant de caractériser les effets apaisants et anti-pollution des extraits végétaux développés par l'entreprise.

Development of in vitro models to study the impact of environmental pollution on skin damages

Détruit après soutenance par le rapporteur

keratinocytes, PAHs, pollution, cosmetics, oxidative stress, inflammation

The skin, as a barrier organ, is daily exposed to numerous atmospheric pollutants. Among them, polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) are particularly concerning due to their mutagenic and carcinogenic properties. They are known to induce oxidative stress and trigger inflammatory responses, contributing to premature skin aging and the development of certain skin disorders. In light of these challenges, the cosmetic industry is increasingly exploring the potential of plant extracts to mitigate the harmful effects of pollution.
This work is part of ongoing research conducted by Groupe Berkem to assess anti-pollution properties of various cosmetic active ingredients using an in vitro cellular model. Human primary keratinocytes exposed to PAHs were used to mimic the effects of pollutants on the epidermis.
The main objective of this project was to develop a reliable protocol for quantifying oxidative stress based on the detection of intracellular reactive oxygen species (ROS) using fluorescent probes (DCFDA/H2DCFDA). Additionally, complementary assays were conducted to evaluate cell viability (MTT assay), the inflammatory response (cytokine quantification by ELISA), as well as the overall antioxidant activity (DPPH assay) in a cell-free model- in connection with the oxidative stress induced by pollutants.
Together, these approaches aim to establish a panel of efficacy tests to characterize the soothing and anti-pollution effects of plant extracts developed by the company.

Ludivine JOURDAN

FISE Mobilité S9

INSERM - DELEGATION REGIONALE PARIS ILE-DE-FRANCE CENTRE EST

PARIS ● FRANCE

Tuteur(s) / Supervisor(s) : Ahmad CHARANEK

2/3/2025 → 8/1/2025

Rôle du récepteur DDR2 dans les cellules souches de glioblastome.

Rapport confidentiel
Soutenance non confidentielle

Glioblastome, cellules souches tumorales, culture cellulaire,DDR2, microenvironnement, signalisation, pharmacologie, CRISPR-Cas9

Le glioblastome est la tumeur cérébrale la plus fréquente et la plus agressive chez l'adulte. Malgré les traitements actuels (chirurgie, radiothérapie, chimiothérapie), la survie médiane des patients reste limitée à environ 15 mois. Cette faible efficacité est en partie due à la présence de cellules souches tumorales (GSCs), capables de résister aux traitements et de régénérer la tumeur. Ces cellules interagissent fortement avec leur microenvironnement, ce qui contribue à leur maintien et à leur agressivité.
Les récepteurs de surface cellulaire jouent un rôle central dans ces interactions. Stratégiquement localisés à la membrane plasmique, ils perçoivent les signaux environnementaux et modulent les voies intracellulaires, permettant aux cellules cancéreuses de s'adapter.
Grâce à des analyses de protéomique de surface, nous avons identifié la tyrosine kinase membranaire, DDR2, comme fortement surexprimée dans les GSCs par rapport aux tissus sains. Bien que son rôle dans le glioblastome soit encore mal défini, cette observation suggère que DDR2 pourrait représenter une cible thérapeutique intéressante. L'objectif de ce stage était donc d'étudier le rôle de DDR2 dans les GSCs. La surexpression de ce récepteur a été validé sur des lignées de GSCs dérivées de patients par immunomarquage, RT-qPCR et Western blot. Afin d'explorer l'implication potentielle de DDR2 dans la régulation des GSCs, des stratégies d'inhibition pharmacologique (inhibiteur WRG-28) et génétique (CRISPR/Cas9, siRNA et shRNA) ont été utilisé. L'impact de DDR2 a ensuite été évalué à travers divers tests fonctionnels mesurant la prolifération, l'invasion, le maintien du phénotype souche et le métabolisme cellulaire. Enfin, l'effet de inhibition DDR2 dans la réponse aux traitements standards du glioblastome (témozolomide et irradiation) a également été exploré. Ce projet vise à mieux comprendre les mécanismes du glioblastome pour identifier de nouvelles cibles thérapeutiques.

Role of DDR2 Receptor in Glioblastoma Stem Cells

Détruit après soutenance par le rapporteur

Glioblastoma, cancer stem cells, cell culture, DDR2, microenvironment, signaling, pharmacology, CRISPR-Cas9

Glioblastoma is the most common and aggressive brain tumor in adults. Despite current treatments (surgery, radiotherapy, chemotherapy), the median survival of patients remains limited to approximately 15 months. This poor prognosis is partly due to the presence of glioblastoma stem-like cells (GSCs), which can resist therapies and regenerate the tumor. These cells interact closely with their microenvironment, which contributes to their maintenance and aggressiveness.
Cell surface receptors play a central role in these interactions. Strategically located at the plasma membrane, they sense environmental cues and modulate intracellular signaling pathways, enabling cancer cells to adapt.
Surface proteomic analyses identified the membrane-bound tyrosine kinase DDR2 as being highly overexpressed in GSCs compared to healthy neural tissues. Although its role in glioblastoma remains poorly defined, this observation suggests that DDR2 could represent a promising therapeutic target.
The objective of this internship was therefore to investigate the role of DDR2 in GSCs. The overexpression of this receptor was confirmed in patient-derived GSC lines using immunostaining, RT-qPCR, and Western blot. To explore DDR2's potential involvement in the regulation of GSCs, both pharmacological inhibition (WRG-28 inhibitor) and genetic silencing (CRISPR/Cas9, siRNA, and shRNA) approaches were employed. DDR2's impact was then assessed through various functional assays measuring cell proliferation, invasion, maintenance of stemness phenotype, and cellular metabolism. Finally, the effect of DDR2 inhibition on the response to standard glioblastoma treatments (temozolomide and irradiation) was also explored. This project aims to better understand the mechanisms of glioblastoma in order to identify new therapeutic targets.

Elsa-Lou KERGOSIEN

FISE

SOLMEYEA PRODUCTION SITE

ATHENS ● GRECE

Tuteur(s) / Supervisor(s) : Efi SARRI

3/3/2025 → 9/3/2025

Optimisation à l'échelle du laboratoire de la productivité de la biomasse à Solmeyea

Rapport confidentiel
Soutenance confidentielle

Microalgues - Croissance - Screening - Optimisation - Biomasse - Fermentation

Dans l'objectif de maximiser la production de protéines destinées à l'industrie alimentaire par les microalgues, il est nécessaire de s'intéresser au développement de souches et à l'optimisation des conditions de culture. Ce projet est divisé en trois parties majeures. Il commence avec la sélection de souches soumises à des conditions de stress pour obtenir des souches non-OGM optimisées, et d'identifier des souches stables au fil des générations. Il continue avec l'étude des paramètres influençant la croissance des cellules dans le milieu de culture. Le troisième aspect est l'étude des paramètres du procédé dans un bioréacteur d'1 litre à l'échelle du laboratoire. Il s'agit d'une partie du projet global de l'entreprise, dans l'objectif de développer à grande échelle les conditions optimales mises en lumière par la recherche en R&D.

Lab-Scale Improvement of Solmeyea's biomass productivity

Détruit après soutenance par le rapporteur

Microalgae - Growth - Screening - Optimisation - Biomass - Fermentation

In order to maximize the production by microalgae of proteins for the food industry, it is necessary to examine the development of strains and the optimization of the culture conditions. This project is divided in three major parts. It begins with the selection of strains by subjecting them under stressing factors to obtain optimized non-GMO strains with desirable traits, and to identify stable strains during generations. It continues with the study of parameters influencing cell growth in the culture medium. The third aspect is the study of the process parameters in a 1 liter bioreactor at the lab-scale. It is part of the company's overall project, which aims to subsequently develop on a large scale the optimal conditions highlighted by R&D research.

Clémence
LE VOYER

FISA

LFB BIOMEDICAMENTS

LES ULIS ● FRANCE

Tuteur(s) / Supervisor(s) : Mouhamed OSSAILI

9/4/2023 ⟶ 9/30/2025

Standardisation des pratiques d'investigation dans le cadre du traitement des déviations portant sur un dénombrement microbien non conforme sur les produits intermédiaires.

Rapport non confidentiel
Soutenance non confidentielle

Qualité, microbiologie, investigation, déviation, BPF

Le LFB fractionne le plasma afin de produire des médicaments destinés à la prise en charge de pathologies graves. Le site de production des Ulis est chargé de la fabrication des produits intermédiaires, les étapes finales du procédé sont ensuite réalisées sur le site de Lille.
A différentes étapes de la fabrication des produits intermédiaires, des contrôles en cours de procédé sont réalisés. Parmi eux figurent les dénombrements microbiens, effectués selon deux méthodes principales : l'ensemencement direct sur milieux gélosés et la filtration sur membrane. En cas de non-conformité des résultats à ces analyses, une déviation est ouverte et des investigations sont alors menées. Au niveau du laboratoire de microbiologie, un rapport d'enquête analytique est conduit et, en parallèle, l'investigation de production doit débuter afin d'identifier l'origine de la contamination et de mettre en place les actions nécessaires.
Élaboré à partir de l'analyse des pratiques actuelles et des recommandations issues des lignes directrices, un mode opératoire a été conçu afin d'harmoniser les démarches d'investigation en cas de dénombrement microbien non conforme sur les produits intermédiaires. Ce document vise à structurer la conduite des analyses en proposant une certaine méthodologie, ainsi qu'un ensemble de points de vigilance et de questionnements à aborder. Il permet d'assurer une approche cohérente entre les différents acteurs impliqués, de guider la recherche des causes de la contamination, et d'évaluer les impacts éventuels sur le produit et la sécurité du patient.

Standardization of investigation practices in the handling of deviations related to non-compliant microbial counts on intermediate products.

Remis à NT. Conservé pendant 3 ans

Quality, microbiology, investigation, deviation, GMP

LFB fractionates plasma to produce medications used in the treatment of serious medical conditions. The production site in Les Ulis is responsible for manufacturing intermediate products, while the final stages of the process are carried out at the Lille site.
At various stages in the production of intermediates, in-process controls are performed. Among these are microbial counts, conducted using two main methods: direct inoculation on agar media and membrane filtration. In the event of non-compliant results, a deviation is opened, and investigations are initiated. The microbiology laboratory conducts an analytical investigation report, while, in parallel, a production-level investigation is launched to identify the source of the contamination and implement appropriate actions.
Based on an analysis of current practices and recommendations from guidelines, a standard operating procedure was developed to harmonize investigation practices in cases of non-compliant microbial counts on intermediate products. This document aims to provide a structured approach to investigations by outlining a clear methodology, as well as key points of attention and questions to be addressed. It ensures a consistent approach among the various stakeholders involved, supports the identification of contamination sources, and helps assess the potential impact on both the product and patient safety.

Romane LEPLOMB

FISE Cbi

YMAGO - ENSTBB

BORDEAUX ● FRANCE

Tuteur(s) / Supervisor(s) : Thibaud TRICHEREAU

3/24/2025 ⟶ 9/23/2025

Etude des facteurs influençant la morphogénèse du mycélium et développement d'un procédé de fermentation du mycélium pour biofabriquer un matériau autotanné

Rapport confidentiel
Soutenance confidentielle

R&D, Alter-cuir, Culture de champignon, Développement de procédé, Bioréacteur

L'industrie du cuir est confrontée à d'importants défis environnementaux et éthiques : pollution, consommation excessive de ressources, impacts sanitaires, atteintes au bien-être animal. Si plusieurs alternatives biosourcées ont vu le jour, elles restent dépendantes de résines pétrosourcées pour atteindre des performances mécaniques encore inférieures au cuir.
En réponse à ces enjeux, la start-up YMAGO s'appuie sur une approche biomimétique pour développer un alter-cuir à partir de mycélium, une structure filamenteuse issue des champignons. L'objectif est de développer un procédé innovant permettant d'obtenir un matériau comparable au cuir par ses performances mécaniques et par ses caractéristiques sensorielles. La biofabrication de ce matériau est économe en ressources et génère peu de déchets.
Mon stage s'articule autour de trois axes principaux. Le premier concerne l'étude des mécanismes de morphogenèse du mycélium, qui peut se différencier en une morphologie spécifique dont les caractéristiques favorisent la cohésion du réseau mycélien. Le second porte sur la maîtrise de l'induction d'un tannage par voie biologique. Les champignons sont capables de s'auto-tanner ce qui apporte durabilité et résistance contre les agressions extérieures. Ces deux premières missions reposent sur les disponibilités en carbone, azote, oxygène et oligo-éléments du milieu nutritif, et des conditions de culture. La troisième mission consiste à contribuer au développement d'un procédé de fabrication reproductible et industrialisable, et présentement à l'obtention d'un démonstrateur de production à l'échelle laboratoire. L'enjeu est d'optimiser les étapes clés de la bioproduction par ajustement du milieu et des conditions de culture. Une perspective supplémentaire est l'intégration d'un bioréacteur afin d'assurer la maîtrise de paramètres critiques, et notamment l'oxygénation du milieu.
Ce projet s'inscrit pleinement dans une démarche d'innovation durable au service des matériaux de demain.

Study of factors influencing mycelium morphogenesis and development of a mycelium fermentation process to biofabricate a self-tanned material

Détruit après soutenance par le rapporteur

R&D, Bio-based leather, Fungi culture, Process development, Bioreactor

Leather industry faces significant environmental and ethical challenges: pollution, excessive resource consumption, health impacts, and animal welfare concerns. While several bio-based alternatives have emerged, they remain dependent on petroleum-based resins to achieve mechanical performances that are still inferior to leather.
In response to these challenges, the startup YMAGO is using a biomimetic approach to develop an alternative leather made from mycelium, a filamentous structure derived from fungi. The goal is to develop an innovative process to produce a material comparable to leather in terms of its mechanical performances and sensory characteristics. The biofabrication of this material is resource-efficient and generates little waste.
My internship focuses on three main objectives. The first involves studying the mechanisms of mycelial morphogenesis, as mycelium can differentiate into a specific morphology whose characteristics promote the cohesion of the mycelial network. The second focuses on controlling the induction of tanning through biological pathways. Fungi are capable of self-tanning, which provides durability and resistance to external aggressions. These first two missions rely on availability of carbon, nitrogen, oxygen, and trace elements in the nutrient medium and on culture conditions. The third mission consists of contributing to the development of a reproducible and industrializable fabrication process, and currently on producing a laboratory-scale production demonstrator. The challenge is to optimize the key stages of bioproduction by adjusting culture medium and conditions. An additional perspective is the integration of a bioreactor to ensure control of critical parameters, particularly the oxygenation of the medium.
This project is fully in line with a sustainable innovation approach to serve the materials of tomorrow.

Aubin LEQUEUX

FISE

GEMBLOUX AGRO-BIO TECH, Université de Liège

GEMBLOUX ● BELGIQUE

Tuteur(s) / Supervisor(s) : Clément BURGEON

3/3/2025 ⟶ 8/29/2025

Étude des mécanismes d'action d'huiles essentielles dans la lutte contre Cercospora beticola, agent responsable de la cercosporiose de la betterave sucrière.

Rapport confidentiel
Soutenance confidentielle

Microbiologie, Biocontrôle, Phytopathologie, Cercospora beticola, Huiles essentielles

Ce PFE s'inscrit dans une démarche de recherche appliquée à la conception de biofongicides à base d'huiles essentielles dans le cadre d'un projet européen visant à développer des solutions de biocontrôle innovantes pour une agriculture durable
L'objectif principal est d'étudier les mécanismes d'action de ces huiles contre Cercospora beticola, afin de mieux comprendre leur efficacité biologique et de lever des verrous scientifiques et réglementaires liés à leur mise sur le marché.
L'étude se concentre sur plusieurs axes mécanistiques :
- Les effets sur la membrane plasmique, notamment via l'analyse de la perméabilité membranaire (tests de conductivité) ;
- L'impact sur la paroi fongique ;
- L'induction potentielle de stress oxydatif.

En parallèle, une partie importante du travail repose sur des activités expérimentales en laboratoire, incluant :
La culture de C. beticola (culture sur milieu solide, repiquages, production de spores, cultures en milieu liquide) ;
La préparation des milieux de culture et la réalisation de tests antifongiques (CMI).
Ce travail contribue directement à la validation des huiles essentielles comme agents actifs potentiels en biocontrôle, avec une approche scientifique rigoureuse soutenant leur intégration dans des stratégies de lutte alternatives aux fongicides de synthèse.

Study of the mechanisms of action of essential oils in the control of Cercospora beticola, the causal agent of cercosporiosis of sugar beet.

Détruit après soutenance par le rapporteur

Microbiology, Biocontrol, Plant pathology, Cercospora beticola, Essential oils

This PFE is part of an applied research approach to the design of biofungicides based on essential oils, as part of a European project aimed at developing innovative biocontrol solutions for sustainable agriculture.
The main objective is to study the mechanisms of action of these oils against Cercospora beticola, in order to gain a better understanding of their biological efficacy and remove scientific and regulatory obstacles to their marketing.
The study focuses on several mechanistic axes:
- Effects on the plasma membrane, notably through analysis of membrane permeability (conductivity tests);
- Impact on the fungal wall;
- Potential induction of oxidative stress.

In parallel, a significant part of the work is based on experimental activities in the laboratory, including :
Cultivation of C. beticola (culture on solid medium, subculturing, spore production, culture in liquid medium);
Preparation of culture media and performance of antifungal tests (MIC).
This work contributes directly to the validation of essential oils as potential biocontrol agents, with a rigorous scientific approach supporting their integration into alternative control strategies to synthetic fungicides.
Translated with DeepL.com (free version)

Elsa MEISSONNIER

CP

SANOFI - Compétences RH

LYON ● FRANCE

Tuteur(s) / Supervisor(s) : David BOURNIZEL

10/1/2024 → 9/25/2025

Développement et optimisation d'une méthode de chromatographie préparative d'exclusion par la taille (SEC), à haut débit, pour la purification d'anticorps

Rapport confidentiel
Soutenance confidentielle

R&D, Down Stream Process (DSP), Anticorps, Purification, HPLC, Chromatographie, SEC, Agrégats, Automatisation, Optimisation, Haut-débit

La plateforme Automated mAb Production (AMP) a été créée en 2018 au sein du département Large Molecule Research, afin de soutenir les activités de recherche des différentes aires thérapeutiques. Elle a pour mission de produire, à l'échelle du millilitre, plusieurs centaines d'anticorps aux formats variés, destinés à être criblés en vue de l'identification des candidats les plus prometteurs. Les anticorps sélectionnés sont ensuite produits et purifiés à l'échelle du milligramme. Seuls les anticorps obtenant des résultats de contrôle qualité conformes aux critères recommandés poursuivront le processus de sélection, jusqu'à l'obtention d'un candidat final.
L'objectif principal de mon projet est de développer, optimiser et automatiser une méthode de chromatographie préparative d'exclusion par la taille (SEC). Cette méthode a pour but d'éliminer les agrégats d'anticorps et d'éventuels contaminants afin d'obtenir un échantillon majoritairement constitué de monomères, tout en obtenant une concentration protéique supérieure ou égale à 0,4mg/mL. En effet, les agrégats présents dans un échantillon peuvent compromettre l'efficacité et le développement de l'anticorps.
La méthode sera destinée à des échantillons présentant un taux élevé d'agrégats (>10%) et devra être compatible avec une large diversité de formats d'anticorps. Pour obtenir un échantillon répondant à ces critères de concentration et de pureté, il est nécessaire de réaliser une étape de SEC préparative permettant de récupérer les éluats de l'échantillon fractionné mais aussi d'analyser les fractions d'intérêts afin de les collecter de manière automatisée en un unique échantillon. Ce travail a impliqué en amont d'analyser les besoins de la plateforme et d'identifier le matériel et les équipements nécessaires.

Development and optimisation of a high-throughput preparative Size-Exclusion Chromatography (SEC) method for antibody purification

Détruit après soutenance par le rapporteur

R&D, Down Stream Process (DSP), Antibodies, Purification, HPLC, Chromatography, SEC, Aggregates, Automatisation, Optimisation, High-Throughput

The Automated mAb Production (AMP) platform was created in 2018 within the Large Molecule Research department to support research activities across various therapeutic areas. Its mission is to produce, on a millilitre scale, several hundred antibodies in different formats, which are then screened to identify the most promising candidates. The selected antibodies are then produced and purified on a milligram scale. Only those antibodies that meet the recommended quality control criteria will continue the selection process, leading to the identification of a final candidate.
The main objective of my project is to develop, optimise and automate a preparative size exclusion chromatography (SEC) method. The aim of this method is to eliminate antibody aggregates and any contaminants to obtain a sample consisting mainly of monomers, while maintaining a protein concentration equal to or greater than 0.4mg/mL. Indeed, aggregates present in a sample can compromise the efficacy and development of the antibody.
The method will be intended for samples with a high aggregation rate (>10%) and must be compatible with a wide range of antibody formats. To obtain a sample that meets these concentration and purity criteria, a preparative SEC step is needed to recover the eluates from the fractionated sample and to analyse the fractions of interest so that they can be collected automatically into a single sample. This work first required analysing the platform's needs and identifying the necessary materials and equipment.

Camille MERESSE

CP

GENETHON — **EVRY-COURCOURONNES ● FRANCE**

Tuteur(s) / Supervisor(s) : Romain FRAGNOUD — **10/1/2024 ⟶ 9/30/2025**

Développement d'un test de potency in vitro pour un produit de thérapie génique : rAAV9-?SARC

Rapport confidentiel
Soutenance confidentielle

Gamma-sarcoglycanopathie, potency, culture cellulaire, RT-ddPCR, Simple Western, OCW (On-Cell Western), lignée KO, thérapie génique

Au sein de l'équipe de développement analytique du Généthon, le projet d'alternance a pour finalité le développement d'un test de potency pour le produit de thérapie génique pour la gamma-sarcoglycanopathie (LGMD-2C), dont un essai clinique de phase I s'est déroulé entre 2010 et 2011 et a obtenu en mars 2024 les autorisations pour démarrer un essai clinique de phase I/II. La gamma-sarcoglycanopathie est un des sous types des sarcoglycanopathies, des maladies génétiques qui appartiennent à l'ensemble des dystrophies des ceintures et qui touchent une personne sur 178 000. La gamma-sarcoglycanopathie est due à une mutation dans le sarcoglycane gamma (GSAR) dont l'absence entraine une perte de stabilité dans le cytosquelette ainsi qu'une diminution de l'intégrité de la fibre musculaire. Les patients atteints de cette maladie souffrent d'une faiblesse dans les muscles des ceintures et des côtes ainsi qu'une hypertrophie des mollets.
Le développement d'un test de potency se fait en parallèle des essais clinique et permet de démontrer l'efficacité biologique du vecteur " médicament " contenant le transgène (gène GSAR) c'est à dire son expression ainsi que le rétablissement de l'activité biologique souhaitée. Au cours de cette alternance, les différentes étapes du test ont été développées en parallèle afin de détecter, dans les cellules malades transduites avec le vecteur de thérapie génique, la protéine GSAR. Dans un premier temps, au niveau transcriptomique en utilisant la RT-ddPCR à partir d'ARNm extraits de cellules puis au niveau protéique par l'utilisation d'une électrophorèse capillaire automatisée (Simple Western Jess) et finalement en étudiant la localisation de la protéine au niveau cellulaire grâce à sa proximité avec d'autres protéines du DAPC (Dystrophin associated protein complex) à la membrane. Afin de réaliser ces différentes étapes du test de potency, il a été nécessaire de réaliser une lignée cellulaire KO (knock-out) pour le gène de la GSAR en utilisant le système d'édition génique CRISPR-Cas9.

Development of an in vitro potency assay for a gene therapy product: rAAV9-?SARC

Détruit après soutenance par le rapporteur

Gamma-sarcoglycanopathy, potency, cell culture, RT-ddPCR, Simple Western, OCW (On-Cell Western), KO line, gene therapy

As part of Genethon's analytical development team, the aim of the sandwich project is to develop a potency assay for the gene therapy product for gamma-sarcoglycanopathy (LGMD-2C), for which a phase I clinical trial was conducted between 2010 and 2011, and which in March 2024 received authorization to start a phase I/II clinical trial. Gamma-sarcoglycanopathy is one of the subtypes of sarcoglycanopathy, a genetic disorder belonging to the limb-girdle dystrophy group, affecting one in 178,000 people. Gamma-sarcoglycanopathy is due to a mutation in sarcoglycan gamma (GSAR), the absence of which leads to a loss of stability in the cytoskeleton and a reduction in muscle fiber integrity. Patients with this disease suffer from weakness in the girdle and rib muscles, as well as hypertrophy of the calves.
The development of a potency assay is carried out in parallel with clinical trials, to demonstrate the biological efficacy of the "drug" vector containing the transgene (GSAR gene), i.e. its expression and the restoration of the desired biological activity. During this alternation, the different stages of the assay were developed in parallel to detect the GSAR protein in diseased cells transduced with the gene therapy vector. Firstly, at transcriptomic level using RT-ddPCR from mRNA extracted from cells, then at protein level using automated capillary electrophoresis (Simple Western Jess) and finally by studying the localization of the protein at cellular level thanks to its proximity to other DAPC (Dystrophin associated protein complex) proteins at the membrane. In order to carry out these different steps of the potency assay, it was necessary to create a KO (knock-out) cell line for the GSAR gene using the CRISPR-Cas9 gene-editing system.

Noémie MINBIELLE

CP

EUROAPI

SAINT-AUBIN-LES-ELBEUF ● FRANCE

Tuteur(s) / Supervisor(s) : Adrien DOMENECH

10/1/2024 → 9/26/2025

Fiabilisation du pilotage d'une centrifugeuse à assiettes avec buses

Rapport confidentiel
Soutenance confidentielle

centrifugeuse, génie des procédés, fiabilisation, débourbage, courbes de production

Dans le cadre d'un bioprocédé industriel, la biomasse est le produit à valeur ajouté. Après la culture cellulaire, une phase de centrifugation est réalisée afin de concentrer le moût via un séparateur à assiettes avec buses. Il s'agit de l'étape du procédé avec le plus de variabilité de réalisation, ce qui la rend critique. L'un des problèmes récurrents lors de l'étape se trouve être le bouchage des buses. Cela nécessite alors l'arrêt de la machine pour l'intervention de démontage, nettoyage et remplacement des buses par la maintenance. Ce problème est donc critique car entrainant une perte de temps, pouvant impacter la stabilité du produit, et un risque d'abimer le matériel. D'un point de vue procédé, les buses évacuent la chambre des boues en continu et lors des débourbages. Leur bouchage est donc directement lié au pilotage du séparateur. L'objectif du projet était ainsi la fiabilisation du pilotage de la centrifugeuse afin d'éviter le démontage en cours de production lié aux bouchages des buses. Ce travail a débuté par l'analyse des opérations précédentes afin d'identifier des situations récurrentes, et des causes potentielles. Trois situations ont été identifiées. De ces situations, deux facteurs exploitables pour fiabiliser la conduite ont été avancés. Afin de proposer un mode opératoire de conduite qui viserait à fiabiliser cette étape, une étude de la théorie a servi comme base à la réflexion. Puis, l'aspect théorique a été comparé à l'ancienne pratique. Pour finir, il faudrait appliquer ces consignes de pilotage sur plusieurs opérations pour analyser le déroulement et rechercher un effet observable sur les bouchages. Les observations pratiques permettraient d'ajuster si besoin la conduite pour rendre plus robuste la fiabilisation.

Improving the reliability of operating a disc-stack centrifuge with nozzles

Détruit après soutenance par le rapporteur

centrifugation, process engineering, reliability, settling, production graphs

In this industrial bioprocess, the added value product is the biomass. After cell growth, a plate separator with nozzles concentrates the must during a centrifugation step. This is one of the most critical stages of the process due to the variability. Nozzle clogging is a recurrent problem encountered during this step. When clogging occurs, the centrifuge must be stopped, disassembled, cleaned and the nozzles replaced by the maintenance team. During the time loss, the product activity may be altered. Moreover, handling the machine can lead to the breakage of certain parts. The nozzles evacuate the sludge chamber during the settling and continuously. Therefore, the clogging is linked to how the centrifuge is operated. The focus of the study was the reliability of the centrifuge operation in order to avoid disassembly due to clogging. To begin with, previous operations were analysed to identify common factors that could lead to recurrent clogging. Three observations were made from which two actionable factors were identified. To propose an operating method that would make the step more reliable, the theory behind these factors was established and studied. Then, the theory was compared with practical observations. Finally, the recommended operating method, developed by combining the theory and the practical observations, should be tested on several operations. The analysis of the new practical observations would allow for adjustments to the recommended method and further strengthen its reliability.

Mathieu MONCHANIN

CP

SANOFI AVENTIS RECHERCHE & DEVELOPPEMENT

Tuteur(s) / Supervisor(s) : Gaelle BORDES

Optimisation et standardisation d'un modèle de culture cellulaire en Ambr® 250 via la caractérisation du transfert d'oxygène

Rapport confidentiel
Soutenance confidentielle

Culture cellulaire de CHO, Fed-batch, Ambr 250, Anticorps Monoclonaux, kLa, Bioréacteur à échelle réduite, Transfert d'oxygène

L'objectif principal du projet est d'optimiser le procédé plateforme standard de culture cellulaire en mode Fed-batch à échelle réduite sur le système Ambr 250. Le développement de tels procédés plateformes, transversaux à plusieurs projets, constitue aujourd'hui un enjeu majeur pour les entreprises biopharmaceutiques comme Sanofi. En effet, ils permettent de standardiser et d'accélérer les phases de développement, dans un contexte où la mise au point de nouvelles solutions thérapeutiques reste un processus long et complexe. Cependant, le modèle actuel sur Ambr 250 présente des limitations importantes, notamment en termes de représentativité vis-à-vis de l'échelle industrielle. En particulier, l'utilisation d'un sparger de type open pipe entraîne des débits d'O? disproportionnés par rapport au faible volume de 250 mL. Cette configuration complique la régulation de l'oxygène dissous (DO) et favorise la formation de mousse. L'ajout d'antimousse, bien que nécessaire, perturbe alors les échanges gazeux et nuit à la stabilité de la DO. De plus, une baisse précoce de la viabilité cellulaire, absente à plus grande échelle, est régulièrement observée à cette échelle.

Pour répondre à ces problématiques, une première phase de travail a porté sur la caractérisation du coefficient de transfert d'oxygène (kLa) sur différentes échelles de bioréacteurs du laboratoire. Cette étape a permis l'élaboration d'un modèle de prédiction du kLa, dont la fiabilité varie selon l'échelle considérée. En parallèle, des tests d'optimisation de l'agitation et de la boucle de régulation du DO ont été menés. La seconde phase du projet vise à exploiter ce modèle de prédiction afin d'ajuster les paramètres du système Ambr 250 pour différents projets du service, à différents stades de développement. Ces ajustements seront ensuite évalués par comparaison avec des lots réalisés à plus grande échelle ainsi qu'avec des modèles scale-down précédemment établis.

VITRY SUR SEINE ● FRANCE

10/1/2024 ⟶ 9/26/2025

Optimization and Standardization of a Cell Culture Model in the Ambr® 250 System Through Oxygen Transfer Characterization

Détruit après soutenance par le rapporteur

CHO cell culture, Fed-batch, Ambr 250, Monoclonal Antibodies, kLa, Small-scale bioreactor, Oxygen transfer

The main objective of this project is to optimize the standard platform process for small-scale Fed-batch cell culture using the Ambr 250 system. The development of such platform processes, which are applicable across multiple projects, represents a major challenge for biopharmaceutical companies like Sanofi. These platforms enable the standardization and acceleration of development phases in a context where the creation of new therapeutic solutions remains a lengthy and complex process. However, the current model on the Ambr 250 system presents significant limitations, particularly in terms of representativeness at industrial scale. Specifically, the use of an open pipe sparger leads to disproportionately high O? flow rates compared to the small 250 mL volume. This configuration complicates dissolved oxygen (DO) control and promotes excessive foaming. Although antifoam agents are required, their addition disrupts gas exchange and compromises DO stability. Additionally, a premature drop in cell viability, absent at larger scales, is frequently observed at this scale.

To address these issues, the first phase of the project focused on characterizing the oxygen transfer coefficient (kLa) across various bioreactor scales in the laboratory. This step enabled the development of a kLa prediction model, whose reliability varies depending on the scale. In parallel, optimization tests were conducted on agitation and DO control loops.
The second phase of the project aims to apply this predictive model to adjust Ambr 250 system parameters for various projects at different development stages. These adjustments will then be evaluated by comparing results with both larger-scale batches and previously established scale-down models.

Julie MORCEL

FISE

ORIA BIOSCIENCE — **PARIS ● FRANCE**

Tuteur(s) / Supervisor(s) : Bastien MASSON

2/17/2025 ⟶ 8/22/2025

Développement d'un protocole innovant d'extraction mitochondriale pour améliorer l'accès aux cibles intracellulaires

Rapport confidentiel
Soutenance confidentielle

Mitochondries, extraction, purification, microscopie, électrophysiologie

De nombreuses cibles thérapeutiques impliquées dans des maladies neurodégénératives, cancer ou maladies rares sont localisées sur les organelles mais leur accès est aujourd'hui limité : les kits d'extraction existants entraînent la fragmentation des organelles, permettant la réalisation d'analyse -omique, mais ne conservant ni leur structure, ni leur fonction. En outre, les méthodes d'extraction manuelles sont trop lentes pour des tests de Drugdiscovery à haut débit.
L'approche adoptée s'inspire d'un protocole développé par Oria pour l'extraction des lysosomes, adapté ici à la complexité spécifique des mitochondries, dont les canaux de la membrane interne régulent le potentiel de membrane, la respiration et la production de ROS, mécanismes au coeur de nombreuses pathologies métaboliques et neurodégénératives.
La première phase du projet a consisté à identifier des conditions expérimentales permettant l'extraction des mitochondries et la dissociation de la membrane externe afin de générer des mitoplastes. Les mitoplastes, formes partiellement ou totalement dépourvues de la membrane externe des mitochondries, permettent d'accéder directement à la membrane interne, cible privilégiée pour l'étude de canaux ioniques. Pour ce faire, des techniques de transfection et le développement de lignées stables ont permis d'observer spécifiquement les membranes mitochondriales avec des marqueurs fluorescents, grâce à la microscopie confocale et à épifluorescence. Ensuite, différentes techniques de purification ont été testées pour éliminer les cellules encore entières, les noyaux et les autres organelles.
La caractérisation des mitoplastes sera confirmée à l'aide de mesures de potentiel membranaire, de tests enzymatiques et d'analyses électrophysiologiques par patch-clamp automatisé. Ces validations permettront ensuite leur utilisation dans des stratégies de Drugdiscovery ciblant les organelles.

Development of an innovative mitochondrial extraction protocol to improve access to intracellular targets

Détruit après soutenance par le rapporteur

Mitochondria, extraction, purification, microscopy, electrophysiology

Many therapeutic targets involved in neurodegenerative diseases, cancer or rare diseases are localized on organelles, but access to them is currently limited: existing extraction kits fragment organelles, enabling -omics analysis, but preserving neither their structure nor their function. In addition, manual extraction methods are too slow for high-throughput drug discovery tests.
The approach adopted is inspired by a protocol developed by Oria for the extraction of lysosomes, adapted here to the specific complexity of mitochondria, whose inner membrane channels regulate membrane potential, respiration and ROS production, mechanisms at the heart of many metabolic and neurodegenerative pathologies.
The first phase of the project involved identifying experimental conditions for extracting mitochondria and dissociating the outer membrane to generate mitoplasts. Mitoplasts, forms partially or totally devoid of the mitochondrial outer membrane, provide direct access to the inner membrane, a prime target for the study of ion channels. To this end, transfection techniques and the development of stable cell lines have made it possible to specifically observe mitochondrial membranes with fluorescent markers, using confocal and epifluorescence microscopy. Next, various purification techniques were tested to eliminate still whole cells, nuclei and other organelles.
The characterization of mitoplasts will be confirmed using membrane potential measurements, enzyme assays and electrophysiological analyses by automated patch-clamp. These validations will then enable their use in Drugdiscovery strategies targeting organelles.

Alicia NABTI

FISA

SANOFI CHIMIE — **ARAMON ● FRANCE**

Tuteur(s) / Supervisor(s) : Manon FUENTES — **9/11/2023 ⟶ 9/26/2025**

Développement de méthodes analytiques

Rapport non confidentiel
Soutenance non confidentielle

Investigations - développement analytique - automatisation -qualité - chromatographies - conductimétrie

Dans le cadre de ma formation en école d'ingénieur, j'ai intégré Sanofi sur le site d'Aramon, spécialisé en synthèse chimique, extraction végétale et biotechnologie. J'ai rejoint le département MSAT, au sein d'un laboratoire dédié au développement de méthodes analytiques et au support analytique des procédés.
La méthode initiale, considérée comme très manuelle, devait être simplifiée et automatisée. Plusieurs pistes ont été explorées : une première, via la chromatographie ionique (ICS Dionex 3000), a été abandonnée pour des raisons techniques. Le projet s'oriente désormais vers une automatisation de la titration et détection par conductimétrie, bien que la préparation des échantillons reste partiellement manuelle. Cette méthode constitue désormais l'axe principal de développement pour la suite du projet.
Mon second projet concernait la caractérisation du gel d'hydroxyde d'aluminium, un adjuvant vaccinal. Dans ce cadre, l'objectif était de prendre en main les méthodes réglementaires et d'expertise, puis de les implémenter au laboratoire. J'ai ainsi réalisé les analyses réglementaires (teneur en aluminium, identification d'ions), complétées par des analyses physico-chimiques approfondies visant à identifier d'éventuels paramètres critiques supplémentaires et à comparer les caractéristiques de différents lots de gels. Ces investigations ont porté sur la mesure du potentiel zêta, indicateur clé de la stabilité colloïdale et la détermination du point isoélectrique. J'ai mené une série d'expériences pour optimiser la méthode : choix de l'éluant (NaCl 0,005 M), ajustement de la dilution (1/1500), ce qui a permis d'obtenir des résultats stables et exploitables.
Cette alternance m'a permis de développer des compétences en investigation, en développement de méthodes, en gestion de projet et en communication scientifique. J'ai dû m'adapter aux imprévus et proposer des solutions concrètes, contribuant à l'amélioration des analyses au sein du laboratoire.

Development of analytical methods

Remis à NT. Conservé pendant 3 ans

Investigations - analytical development - ??automation - quality - chromatography - conductimetry

As part of my engineering school training, I joined Sanofi at the Aramon site, which specializes in chemical synthesis, plant extraction, and biotechnology. I joined the MSAT department, in a laboratory dedicated to the development of analytical methods and analytical process support.
The initial method, considered highly manual, needed to be simplified and automated. Several avenues were explored: the first, using ion chromatography (ICS Dionex 3000), was abandoned for technical reasons. The project is now moving toward automated titration and detection by conductimetry, although sample preparation remains partially manual. This method now constitutes the focus of development for the rest of the project.
My second project concerned the characterization of aluminum hydroxide gel, a vaccine adjuvant. In this context, the objective was to master the regulatory and expert methods, then implement them in the laboratory. I performed regulatory analyses (aluminum content, ion identification), supplemented by in-depth physicochemical analyses aimed at identifying additional critical parameters and comparing the characteristics of different gel batches. These investigations focused on measuring zeta potential, a key indicator of colloidal stability, and determining isoelectric point. I conducted a series of experiments to optimize the method: selection of eluent (0.005 M NaCl) and dilution adjustment (1/1500), which resulted in stable and usable results.
This work-study program allowed me to develop skills in investigation, method development, project management, and scientific communication. I had to adapt to unforeseen circumstances and propose concrete solutions, contributing to the improvement of analyses within the laboratory.

Niloofar NAMAZIRAD

FISA

MERCK BIODEVELOPMENT — **MARTILLAC ● FRANCE**

Tuteur(s) / Supervisor(s) : Emilie CESTER

9/4/2023 ⟶ 9/26/2025

Mise en place d'une plateforme de formulation d'anticorps à haute concentration dans un contexte d'intensification de procédés

Rapport non confidentiel
Soutenance non confidentielle

Anticorps monoclonaux, Intensification des procédés, Formulation liquide à haute concentration, Excipients, Plan d'expériences (DoE), Stabilité des anticorps, Viscosité de produits injectables

Le marché mondial des anticorps monoclonaux (mAb) a connu une croissance rapide ces dernières années, stimulée par les avancées en ingénierie des anticorps et des procédés. Cette expansion représente un défi majeur pour les fabricants, notamment les CDMO (Contract Development and Manufacturing Organizations), qui doivent désormais satisfaire une demande croissante, tant en volume qu'en rapidité de production. Dans ce contexte, l'intensification des procédés de culture et de purification permet de d'augmenter la productivité et de réduire la durée de production. Toutefois, cette intensification génère des volumes considérables de produit à répartir, stocker et transporter.
La formulation des anticorps à haute concentration (HC) constitue une solution efficace pour réduire ces volumes. Autre aspect intéressant, ces formulations facilitent l'administration sous-cutanée, une voie de plus en plus choisie pour améliorer le circuit de soins et la vie des patients. Cependant, le développement des formulations HC présente des défis techniques, tels que l'augmentation de la viscosité des produits, et la diminution de la stabilité des protéines.
Un projet a été mené au laboratoire de développement de Merck pour créer une plateforme de formulation de mAbs à HC. Une base de données a été construite à partir des mAbs commercialisés, intégrant des données sur leurs caractéristiques physicochimiques, les paramètres de formulation et les excipients. Cette base a permis d'identifier les principales tendances de formulation et de justifier les choix expérimentaux. Un plan d'expériences (DoE) a été développé pour étudier l'impact des facteurs sur la viscosité et la stabilité des formulations HC. L'objectif final est de développer une plateforme de formulation optimisée, prête à être déployée dans les programmes de développement des mAbs à HC.

Implementation of an antibody formulation platform at high concentration in the context of process intensification

Remis à NT. Conservé pendant 3 ans

Monoclonal antibodies, Process intensification, High concentration liquid formulation, Excipients, Design of experiments (DoE), Antibody stability, Viscosity of liquid injections

The global monoclonal antibody (mAb) market has experienced rapid growth in recent years, driven by advancements in antibody engineering and processing. This expansion presents a major challenge for manufacturers, especially Contract Development and Manufacturing Organizations (CDMOs), who must meet an increasing demand in both production volume and process speed. In this context, process intensification in cell culture and purification allows for increased productivity and reduced production time. However, this intensification generates considerable volumes of product to be distributed, stored, and transported.
High-concentration (HC) antibody formulations offer an effective solution to reduce these volumes. Another interesting aspect is that these formulations facilitate subcutaneous administration, a route increasingly chosen to improve the healthcare process and patients' quality of life. However, developing HC formulations presents technical challenges, such as increased product viscosity and decreased protein stability.
A project was carried out at Merck's development laboratory to create a high-concentration mAb formulation platform. A database was built from marketed mAbs, integrating data on their physicochemical characteristics, formulation parameters, and excipients. This database helped identify key formulation trends and justify experimental choices. A Design of Experiments (DoE) approach was developed to study the impact of factors on viscosity and stability of HC formulations. The ultimate goal is to develop an optimized formulation platform, ready to be deployed in HC mAb development programs.

Anaïs OSMAN

CP

EPISKIN — **LYON CEDEX 7 ● FRANCE**

Tuteur(s) / Supervisor(s) : Nadège ADE — **10/1/2024 ⟶ 9/26/2025**

Evaluation d'un nouveau modèle d'épiderme humain inflammatoire mimant la dermatite atopique obtenu par bio-impression

Rapport confidentiel
Soutenance confidentielle

Dermatite atopique, épiderme compromis, inflammation, fonction barrière, filaggrine, histologie.

La dermatite atopique (DA), maladie cutanée inflammatoire touchant les pays industrialisés, est un enjeu majeur pour le groupe L'Oréal dans le secteur dermo-cosmétique. Parmi les différentes approches pour limiter les récidives, limiter les effets de la réponse inflammatoire sur la structure de l'épiderme et sa fonctionnalité est un axe de recherche crucial. Un nouveau modèle d'épiderme bio-imprimé, développé dans les laboratoires L'Oréal et mis en production à Episkin, est utilisé pour évaluer les performances in vitro des actifs permettant de traiter la DA. Ce modèle innovant reproduit la peau atteinte de DA, mimant ainsi une zone lésionnelle en condition inflammatoire. L'optimisation d'un protocole de traitement (avec un cocktail inflammatoire mimant la réponse immunitaire Th2) a permis d'obtenir des caractéristiques comparables à la peau des patients atteints : spongiose, inflammation et fonction barrière altérée. Une première version d'un protocole d'évaluation d'actifs traitant la DA a été mis au point avec deux références pharmaceutiques (dexaméthasone et desonide). Ce protocole a permis de montrer que ces deux références préviennent et traitent la DA in vitro permettant de maintenir une physiologie et une homéostasie épidermiques proches de tissus sains. Ce premier protocole sur tissus bio-imprimés compromis semble donc être un outil pertinent et prometteur pour l'évaluation d'actifs pour le traitement de la DA.

Evaluation of a new inflammatory human epidermal model mimicking Atopic Dermatitis obtained by bioprinting.

Détruit après soutenance par le rapporteur

Atopic dermatitis, compromised epidermis, inflammation, barrier function, filaggrin, histology.

Atopic dermatitis (AD), an inflammatory skin disease affecting industrialized countries, is a major challenge for the L'Oréal group in the dermo-cosmetic sector. Among the different approaches to limit recurrences, limiting the effects of the inflammatory response on the structure and functionality of the epidermis is a crucial research area. A new bioprinted epidermal model, developed in L'Oréal laboratories and put into production at Episkin, is used to evaluate the in vitro performance of active ingredients capable of treating AD. This innovative model reproduces AD-affected skin, thus mimicking a lesional area under inflammatory conditions. The optimization of a treatment protocol (with an inflammatory cocktail mimicking the Th2 immune response) has made it possible to obtain characteristics comparable to those of patients' skin: spongiosis, inflammation, and impaired barrier function. A first version of an evaluation protocol for active ingredients treating AD has been developed with two pharmaceutical references (dexamethasone and desonide). This protocol demonstrated that these two references prevent and treat AD in vitro, allowing the maintenance of epidermal physiology and homeostasis close to healthy tissues. This initial protocol on compromised bioprinted tissues therefore appears to be a relevant and promising tool for the evaluation of active ingredients for the treatment of AD.

Balthazar PERRIN

FISE

SANOFI PASTEUR

MARCY L'ÉTOILE ● FRANCE

Tuteur(s) / Supervisor(s) : Christel LOGEZ

2/10/2025 → 8/8/2025

Implémentation et évaluation d'un nouveau micro-bioréacteur pour le développement de procédés de culture bactérienne pour la production de plasmide

Rapport confidentiel
Soutenance confidentielle

Plasmide, microBioréacteur, culture bactérienne, ARNm, R&D, USP

Les vaccins à ARNm représentent une évolution majeure dans le domaine de la prévention des maladies infectieuses. Grâce à leur flexibilité, leur rapidité de développement et leur efficacité, ils permettent de répondre plus rapidement à des maladies émergentes. Sanofi, en tant qu'acteur majeur de la santé mondiale, a investi massivement pour développer une chaîne de valeur complète autour de l'ARNm en France, notamment avec l'inauguration en 2025 d'une nouvelle unité d'excellence en R&D à Marcy-l'Étoile. Cette plateforme permet de maîtriser toutes les étapes, de la production des plasmides à la formulation finale du vaccin, renforçant la capacité d'innovation de Sanofi dans le domaine des vaccins de nouvelle génération

Les ARNm sont produits par transcription in vitro à partir de plasmide comme modèle ADN. Cela nécessite d'avoir une grande quantité de plasmide qui sont amplifiés grâce à la machinerie cellulaire bactérienne. Le travail de l'équipe dans laquelle j'effectue mon stage se concentre précisément sur cette étape de production de plasmide. Elle est notamment responsable de la transformation des bactéries avec les plasmides d'intérêt, de la sélection des clones les plus performants, et de la constitution des banques sous forme de stocks glycérol qui permettent de conserver les bactéries transformées pendant des dizaines d'année. Ces banques sont ensuite utilisées pour inoculer des précultures en milieu liquide de petit volume, elles-mêmes utilisées pour l'inoculation de fermenteurs de plus grands volumes. Cette équipe travaille également sur l'optimisation des conditions de culture de l'ensemble de ces étapes afin de produire une quantité élevée de plasmides, tout en garantissant une qualité optimale nécessaire à sa transcription.

L'objectif de mon stage est de mettre en place et d'évaluer le potentiel d'un nouvel équipement, en identifiant ses avantages et ses limites pour soutenir ces activités. Cet équipement permet de gérer 48 micro-bioréacteurs en parallèle, facilitant ainsi le criblage à haut débit grâce à des mesures individuelles et en temps réel des paramètres. D'une part, j'ai réalisé une étude comparative de cet équipement avec la méthode actuelle de culture en erlenmeyers pour le criblage de clones. D'autre part, j'ai évalué son utilisation pour tester différentes conditions de préculture afin d'analyser leurs impacts sur la croissance bactérienne, contribuant ainsi à l'optimisation globale du procédé.

Implementation and evaluation of a new micro-bioreactor for the development of bacterial culture processes for plasmid production.

Détruit après soutenance par le rapporteur

Plasmid, Microbioreactor, bacterial culture, mRNA, R&D, USP

mRNA vaccines represent a major advancement in the field of infectious disease prevention. Thank to their flexibility, rapid development and effectiveness, they enable a quicker response to emerging disease. Sanofi, as a leader in global health, has made significant investments to develop a complete mRNA value chain in France, especially in Marcy l'Etoile with the inauguration of a new R&D center of excellence in 2025. This platform covers all stages, from the plasmid production to the final vaccine formulation, thereby strengthening Sanofi's innovation capacity on next generation vaccines.

mRNAs are produced by in vitro transcription using plasmids as a DNA template. This requires large quantities of plasmid to be amplified using bacterial cell machinery. The work of the team in which I'm doing my internship focuses precisely on this plasmid production stage. In particular, it is responsible for transforming bacteria with the plasmids of interest, selecting the most efficient clones, and building up banks in the form of glycerol stocks, which enable transformed bacteria to be stored for decades. These banks are then used to inoculate precultures in small-volume liquid media, which in themselves are used to inoculate larger-volume fermenters. The team is also working on optimizing the culture conditions for all these steps, in order to produce a high quantity of plasmids, while guaranteeing the optimal quality required for transcription.

The aim of my internship is to implement and evaluate the potential of a new equipment, identifying its advantages and limitations to support these activities. This equipment can run 48 small-volume microbioreactors in parallel, facilitating high-throughput screening thanks to individual, real-time parameter measurements. On one side, I carried out a comparative study of this equipment with the current Erlenmeyer culture method for clone screening. On the other hand, I evaluated its use to test different preculture conditions to analyze their impact on bacterial growth, thus contributing to the overall optimization of the process.

Josselin
PEUTO

FISE Mobilité S9

SANOFI WINTHROP INDUSTRIE 69280

Tuteur(s) / Supervisor(s) : Aude CABRERA

Détermination des actions pour les dispositifs en ligne dans le processus de change-over post-production.

Rapport confidentiel
Soutenance non confidentielle

Transfert de procédé, Atelier multiproduit, Change-over, Contamination croisée, Analyse de risque

Le site Sanofi d'Aramon situé dans le Gard rassemble de multiples activités de synthèse chimique, d'extraction végétale et de biotechnologies pour la production de principes actifs. Dans le cadre d'un transfert de procédé depuis le site Sanofi situé à Francfort vers le département biotechnologie d'Aramon, 3 procédés pour la production d'enzymes recombinantes, dont la r?-galactosidase, doivent être implémentés dans les ateliers de production déjà existant pour la Rasburicase, principe actif produit sur site depuis 2006. L'atelier de production de la Rasburicase désormais multiproduit, voit pour la première fois l'utilisation d'E.coli dans ses installations. Les changements de configuration en atelier réalisés lors des différentes campagnes de production sont suivis pendant le processus de change-over. Ce projet de fin d'étude se place dans le cadre de ce processus pour passer d'une campagne r?-galactosidase à une campagne Rasburicase avec la rédaction des différents documents nécessaires pour la préparation de ce change-over. La description du procédé en place, le statut dédié ou commun des installations concernées par les deux procédés et le détail des actions de change-over nécessaires font partie de ce processus. Des études viennent en support de ces actions afin de limiter au maximum les risques lors du changement de campagne de production. Les endotoxines produites lors d'une campagne de r?-galactosidase sont le principal point d'attention. Une analyse de risque suivant les instruments rencontrés dans le flux produit ainsi que les matières en contact produit, particulièrement les élastomères, sont identifiés pour déterminer les actions de change-over supplémentaires. Les actions retenues seront mises en application dans les instructions de fin de campagne r?-galactosidase. D'autres tâches annexes au transfert du procédé sont réalisées comme la rédaction de rapports à la suite de la campagne de production de la r?-galactosidase.

ARAMON ● FRANCE

3/17/2025 ⟶ 9/17/2025

Determination of actions for inline devices in the post-production changeover process.

Détruit après soutenance par le rapporteur

Process transfer, Change-over, multiproduct workshop, Cross-contamination, Risk analysis

The Sanofi site in Aramon, located in Gard, combines multiple activities in chemical synthesis, plant extraction, and biotechnology for the production of active ingredients. As part of a process transfer from the Sanofi site in Frankfurt to Aramon's biotechnology department, 3 processes for producing recombinant enzymes, including r?-galactosidase, must be implemented in existing production workshops for Rasburicase, an active ingredient produced on-site since 2006. The Rasburicase production workshop, now multi-product, sees the use of E. coli in its facilities for the first time. Configuration changes in the workshop during different production campaigns are monitored during the change-over process. This internship is part of this process to transition from an r?-galactosidase campaign to a Rasburicase campaign, with the drafting of various documents necessary for preparing this change-over. The description of the current process, the dedicated or shared status of facilities involved in both processes, and the details of necessary change-over actions are part of this process. Studies support these actions to minimize risks during the production campaign change. Endotoxins produced during an r?-galactosidase campaign are the main point of attention. A risk analysis of instruments encountered in the product flow and product-contact materials, particularly elastomers, is identified to determine additional change-over actions. The selected actions will be implemented in the end-of-campaign instructions for r?-galactosidase. Other tasks related to the process transfer are carried out, such as writing reports following the ?-galactosidase production campaign.

Zoé PFLIGER

FISA

SOCIETE D'ETUDES DERMATOLOGIQUES - SEDERMA

LE PERRAY EN YVELINES ● FRANCE

Tuteur(s) / Supervisor(s) : Marie BERTHY

9/11/2023 ⟶ 9/30/2025

Développement d'une méthodologie CRISPR pour l'obtention de lignées cellulaires cutanées modifiées par knock-in ou knock-out.

Rapport confidentiel
Soutenance confidentielle

in-vitro, actifs, CRISPR, knock-out, knock-in, gènes, cellules de la peau

Croda Le Perray est une entreprise française spécialisée dans le développement et la production d'actifs innovants pour l'industrie cosmétique dont le service in-vitro est chargé de l'évaluation de l'efficacité et de la valorisation des actifs. L'objectif de mes deux années d'alternance était de fournir au service de nouvelle lignée cellulaire cutanée modifiée nécessaire à la conception de nouveaux tests. Dans ce but, un protocole de modification du génome utilisant CRISPR/Cas9 a été mis au point sur cellules de la peau. CRISPR est une technologie d'édition du génome développée en 2012, se basant sur le système immunitaire adaptatif des bactéries, et permettant de modifier un gène cible à l'aide d'un ARN guide spécifique et d'une nucléase, la Cas9, capable de couper l'ADN double brin. CRISPR permet de réaliser différents types de modifications génomiques, dont les deux utilisées chez Croda Le Perray : knock-out (KO) ou knock-in (KI). Le KO consiste à interrompre une séquence génomique d'intérêt pour stopper l'expression du gène alors que le KI consiste à venir fusionner une séquence d'intérêt avec la séquence du gène cible sans en interrompre l'expression. Les modifications génomiques sont ensuite validées par fluorescence, PCR et séquençage. Cette approche a permis de mettre au point un protocole de modification de génome sur lignée cellulaire de kératinocytes ainsi que l'obtention de plusieurs lignées modifiées de kératinocytes immortalisés ou primaires et de cellules de cheveux immortalisées.

Development of a new CRISPR methodology to obtain knock-in or knock-out modified skin cell lines.

Détruit après soutenance par le rapporteur

in-vitro, active ingredients, CRISPR, knock-out, knock-in, genes, skin cells

Croda Le Perray is a French company that specializes in the development and production of innovative active ingredients for the cosmetic industry. Its in-vitro department is responsible for evaluating the efficacy and significance of the active ingredients. The main objective of my apprenticeship was to engineer modified skin cell lines that can be used to create new tests. To this end, a genome modification protocol using CRISPR/Cas9 was developed on keratinocytes. CRISPR is a genome-editing technology developed in 2012, based on the bacterial adaptive immune system, which enables the modification of a selected gene using a specific guide RNA and the Cas9 nuclease, capable of cutting double-stranded DNA. CRISPR can be used to realize many types of genomic modification, including the two modifications used at Croda Le Perray: knock-out (KO) and knock-in (KI). KO modification consists of interrupting the genomic sequence in order to stop the protein expression, whereas KI consists of fusing a sequence of interest to the target sequence without interrupting its expression. After edition, the genomic modifications are confirmed by fluorescence, PCR and sequencing. Using this approach, a protocol for gene editing was developed on one keratinocyte cell line and was used to produce several modified cell lines of immortalized or primary keratinocytes and immortalized hair cells.

Dorine PHAN

FISE

SANOFI AVENTIS RECHERCHE & DEVELOPPEMENT

VITRY SUR SEINE ● FRANCE

Tuteur(s) / Supervisor(s) : Guillaume MOTTET

2/17/2025 ⟶ 8/15/2025

Optimisation d'un protocole de criblage haut débit de drogue sur sphéroïdes par une approche microfluidique.

Optimization of a high-throughput drug testing pipeline on spheroids using microfluidics approach.

Rapport confidentiel
Soutenance confidentielle

Détruit après soutenance par le rapporteur

microfluidique, culture-cellulaire-3D, sphéroïdes, criblage, EC50

Le développement préclinique évalue l'efficacité et la sécurité d'un candidat médicament via des tests in vitro sur cellules et in vivo. Les modèles cellulaires en 2D ont été largement utilisés en raison de leur simplicité de culture mais ne miment pas exactement la réalité biologique. Les modèles 3D tels que les sphéroïdes et organoïdes sont donc de plus en plus utilisés car ils miment plus fidèlement les conditions physiologiques observées in vivo. Toutefois, la culture cellulaire en 3D reste une technique complexe, ce qui explique pourquoi les tests de criblage à haut débit sont encore majoritairement réalisés en 2D.
L'équipe microfluidique de Sanofi a développé une nouvelle technologie brevetée d'encapsulation de cellules en gouttes. Cette méthode permet de générer des milliers de gouttes en quelques minutes, chacune contenant une ou plusieurs cellules. Cette technique permet notamment la formation à haut débit de sphéroïdes, et a démontré son efficacité y compris avec des lignées cellulaires qui ne forment pas spontanément de sphéroïdes avec des méthodes classiques (plaques ULA, hanging droplet).
Le screening de drogues est ensuite réalisé, en déterminant notamment les valeurs d'EC50 après exposition des sphéroïdes à différentes concentrations de drogue. Des expériences menées avec un ADC (antibody drug conjugate) développé par Sanofi ont montré des résultats comparables à ceux obtenus avec des modèles 2D et 3D conventionnels. Toutefois, la variabilité inter-expérimentale reste un point critique.
Mon projet au sein de l'équipe vise à optimiser le protocole de drug testing afin de réduire cette variabilité, avec pour objectif d'automatisation de l'étape de distribution. Plusieurs méthodes ont été testées et comparées, incluant des dispositifs pré-commerciaux ou détournés de leur usage initial. L'objectif actuel est d'identifier les options les plus prometteuses pour notre application spécifique.

Preclinical drug development usually combines in vitro cell cultures and animal testing. While 2D-cell models have long been the standard due to their simplicity, they fail to replicate the complexity of living tissues. In contrast, 3D-cell models better mimic the complexity of living tissues, making them more suitable for predictive drug testing. However, 3D models still face challenges related to reproducibility and scalability, which limit their widespread utilization in high-throughput drug screening.
Sanofi's microfluidics team, which brings together expertise in biology, physics, and chemistry, has developed a proprietary droplet-microfluidics technology that enables the encapsulation of cells into individual beads, producing thousands of beads within minutes. This innovation can be used for high-throughput spheroids generation - 3D-cell aggregates that better mimic tumor behavior than traditional 2D monolayer cultures. Unlike conventional methods such as ULA plates or the hanging drop technique, this new approach enables spheroid formation even from cell lines that typically do not form spheroids.
Using these 3D models, drug testing can be performed - typically by determining EC?? values - through exposing a defined number of spheroids to known concentrations of a drug. Previous results obtained by the team using an Antibody-Drug Conjugate developed by Sanofi, were similar to classical 2D and 3D models values, validating the reliability of the droplet-microfluidics spheroid model. However, variability remains a major challenge, mainly due to inconsistencies in the distribution step.
My project aims to optimize the EC?? protocol by minimizing variability, particularly by automating the distribution step. Several distribution methods have been tested including repurposed devices and pre-commercial equipment, each having its own strengths and limitations. The current objective is to identify the most promising options for our specific application.

Jade
RICHER

CP

Sanofi Winthrop Industrie

VITRY SUR SEINE ● FRANCE

Tuteur(s) / Supervisor(s) : Mélanie SEVRIN

10/1/2024 → 9/26/2025

Support à la production d'anticorps monoclonaux et amélioration continue

Rapport confidentiel
Soutenance confidentielle

Production, anticorps monoclonaux, gestion de projets, amélioration continue, BPF

Sur le site de production et R&D de Vitry-Sur-Seine, le Biolaunch abrite la production de quatre anticorps monoclonaux commerciaux pour le traitement de l'hypercholestérolémie, du myélome multiple et de la polyarthrite rhumatoïde.
Au sein de l'équipe Projet, je participe au support à la production et à l'amélioration continue. Je suis amenée à travailler sur une multitude de projets, comme la standardisation des sanitisations des résines de chromatographie post-package, la mise en obsolescence de la documentation de production et le retrait d'équipements suite au retrait d'anciens produits, le soutien à la planification de l'arrêt technique et le suivi de la participation aux formations, l'optimisation de l'ergonomie de la préparation d'un tampon, ou encore la régularisation des écarts mis en évidence entre la métrologie et la production.
Le projet le plus important consiste en l'optimisation de l'utilisation de trois tampons de chromatographie. Le constat initial faisait état de l'utilisation de la moitié du volume préparé des trois solutions de tampons. Il a été proposé de valoriser l'entièreté des préparations en utilisant chacun des trois tampons sur deux lots de production d'anticorps. L'implémentation de ce changement a nécessité l'ouverture d'un Change Control pour évaluer les impacts du changement et définir les actions, la planification des tâches et l'animation de réunions bimensuelles pour le suivi de l'avancement du projet. L'implémentation de ce changement apporte un gain financier important, une réduction du temps de préparation des tampons et participe à l'effort d'économie d'eau.
Une autre de mes missions consiste en la préparation du tech transfer d'un nouveau procédé de production d'un anticorps déjà produit sur le site. Je représente la production USP/milieux et DSP/tampons pour vérifier la faisabilité technique du procédé designé par les équipes MSAT.

Monoclonal Antibody Manufacturing Support & Continuous Improvement

Détruit après soutenance par le rapporteur

Biomanufacturing, Monoclonal antibodies, Project management, Continuous improvement, GMP

At the Vitry-Sur-Seine production and R&D site, the Biolaunch facility is dedicated to manufacturing four commercial monoclonal antibodies used in the treatment of hypercholesterolemia, multiple myeloma, and rheumatoid arthritis.
As part of the Project team, I contribute to production support and continuous improvement initiatives. I'm involved in a wide range of projects, such as standardizing the post-package sanitization process for chromatography resins, phasing out outdated production documentation and equipment following product discontinuation, supporting the planning of technical shutdowns and tracking training participation, improving the ergonomics of buffer preparation, and addressing discrepancies identified between metrology and production.
The most significant project I've led focuses on optimizing the use of three chromatography buffers. Initial observations showed that only half the volume of each prepared buffer solution was actually used. We proposed maximizing the use of each buffer by applying them across two antibody production batches. Implementing this change required opening a Change Control to assess the impact, define necessary actions, schedule tasks, and lead biweekly meetings to monitor progress. This optimization has resulted in substantial cost savings, reduced buffer preparation time, and contributed to water conservation efforts.
Another key responsibility of mine is preparing for the tech transfer of a new production process for an antibody already manufactured at the site. I represent the USP/media and DSP/buffer production teams to assess the technical feasibility of the process designed by the MSAT team.

Noémie RICHET

FISE

INSERM U1312 (Dabernat)

BORDEAUX CEDEX ● FRANCE

Tuteur(s) / Supervisor(s) : Sandrine DABERNAT

3/17/2025 ⟶ 9/12/2025

Comment cibler spécifiquement les tumeurs par thérapie génique ? Pseudotypage des vecteurs lentiviraux

Rapport confidentiel
Soutenance confidentielle

Ciblage tumoral, Intégrines, Glycoprotéine virale, Transduction lentivirale spécifique, Pseudotypage viral

Les cancers représentent un défi thérapeutique majeur, nécessitant des approches innovantes et ciblées. Le génie génétique permet le transfert de gènes thérapeutiques dans les cellules tumorales via des vecteurs lentiviraux. Cependant, ces vecteurs manquent souvent de spécificité, notamment en raison de l'utilisation de l'enveloppe VSV-G, choisie pour son large tropisme. Toutefois, tout changement modifiant ce tropisme altère ses capacités de fusion. Les glycoprotéines des virus Sindbis (SINV) et Nipah (NIV), dont les fonctions de reconnaissance et de fusion sont dissociées, offrent une alternative prometteuse.
Un système de pseudotypage basé sur les glycoprotéines SINV fusionnées à des fragments d'anticorps (scFv) a déjà été développé pour cibler des antigènes tumoraux. Mon projet vise à élargir les possibilités de ciblage en remplaçant le scFv par un peptide RGDL, ayant la capacité de se fixer aux intégrines humaines, surexprimées dans de nombreuses tumeurs solides. Par rapport au scFv, ce système réduit davantage la distance entre le vecteur viral et la cellule cible, grâce à la petite taille du peptide, paramètre clé pour une transduction efficace. Il permet également de cibler un antigène différent, augmentant ainsi le nombre de modèles tumoraux accessibles et donc la polyvalence du vecteur.
En parallèle, je compare les performances du système SINV-scFv à une plateforme équivalente utilisant les glycoprotéines modifiées du virus Nipah (NIV-scFv), en évaluant leur spécificité et leur efficacité de transduction. Le projet repose sur le clonage des glycoprotéines modifiées, l'analyse de l'expression des antigènes cibles sur différentes lignées tumorales (qPCR, cytométrie en flux), et l'évaluation de l'efficacité et de la spécificité de transduction in vitro (culture cellulaire, transduction virale). L'objectif est de développer un vecteur lentiviral hautement spécifique, adaptable et transposable en clinique.

Lentiviral Vector Pseudotyping for Specific Tumor Targeting in Gene Therapy

Détruit après soutenance par le rapporteur

Tumor targeting, Integrins, Viral glycoproteins, Specific lentiviral transduction, Viral pseudotyping

Cancer remains a major therapeutic challenge, requiring innovative and targeted approaches. Genetic engineering enables the transfer of therapeutic genes into tumor cells using lentiviral vectors. However, these vectors often lack specificity, mainly due to the frequent use of the VSV-G envelope, selected for its broad tropism; yet any modification to alter this tropism tends to impair its fusion capability. Glycoproteins from Sindbis (SINV) and Nipah (NIV) viruses, whose recognition and fusion functions are dissociated, offer a promising alternative.
A pseudotyping system based on SINV glycoproteins fused to single-chain antibody fragments (scFv) has already been developed to target tumor-associated antigens. My project aims to broaden targeting strategies by replacing the scFv with an RGDL peptide, known for binding human integrins, which are overexpressed in many solid tumors. Compared to the scFv, this system further reduces the distance between the viral vector and the target cell due to the peptide's small size-a key factor for efficient transduction. It also enables targeting of a different antigen, thereby expanding the range of tumor models and improving vector versatility.
In parallel, I compare the performance of the SINV-scFv system with an equivalent platform using modified Nipah virus glycoproteins (NIV-ScFv), evaluating their specificity and transduction efficiency. The project involves cloning of modified glycoproteins, analysis of target antigen expression in various tumor cell lines (qPCR, flow cytometry), and assessment of transduction efficiency and specificity in vitro (cell culture, viral transduction). The goal is to develop a highly specific, efficient, and clinically translatable lentiviral vector.

Axelle ROLLAND

FISE

ADOCIA - SERVICE BIOLOGIE

LYON ● FRANCE

Tuteur(s) / Supervisor(s) : Clément COCITA

3/3/2025 ⟶ 8/31/2025

Évaluation in vitro des performances d'un hydrogel pour la viabilité et le confinement de sphéroïdes encapsulés.

Rapport confidentiel
Soutenance confidentielle

Thérapie cellulaire, hydrogel, sphéroïdes, tests in vitro, viabilité, confinement

La thérapie cellulaire représente une solution prometteuse pour le traitement de nombreuses pathologies. Toutefois, une limite importante de la thérapie cellulaire utilisant des cellules allogéniques (issues de donneurs) est la réponse immunitaire associée, nécessitant le recours à des traitements immunosuppresseurs aux effets secondaires délétères. Pour contourner cette limitation, l'encapsulation de cellules dans un biomatériau apparaît comme une stratégie efficace permettant d'assurer une immunoisolation. Adocia a développé la technologie AdoShell®, un hydrogel immunoprotecteur conçu pour l'encapsulation d'îlots pancréatiques, destiné au traitement du diabète de type 1. Sa porosité permet l'apport en oxygène et en nutriments, la diffusion de l'insuline produite, ainsi que l'évacuation des déchets métaboliques, tout en assurant la protection efficace des cellules encapsulées contre le stress mécanique et le système immunitaire de l'hôte. Cette méthode d'encapsulation a démontré sa capacité à préserver la viabilité et la fonctionnalité des îlots pancréatiques primaires ou dérivés de cellules souches. La prochaine étape est de diversifier les applications de la plateforme AdoShell® à d'autres types cellulaires. L'objectif principal de ce stage est donc d'évaluer la compatibilité d'AdoShell® avec différents types cellulaires in vitro, en étudiant notamment l'impact de l'encapsulation sur leur viabilité et leur fonctionnalité. Cette démarche vise à établir une preuve de concept de l'utilisation d'AdoShell® comme plateforme d'encapsulation polyvalente, ouvrant la voie à de nouvelles approches thérapeutiques. En parallèle, il s'agira de poursuivre la caractérisation d'AdoShell®, en évaluant in vitro la capacité du gel à former une barrière physique efficace pour limiter la prolifération cellulaire ainsi que la migration des cellules encapsulées. Ce travail renforcera le potentiel d'AdoShell® comme solution innovante pour l'encapsulation cellulaire à visée thérapeutique.

In vitro evaluation of the performance of a hydrogel for the viability and confinement of encapsulated spheroids.

Détruit après soutenance par le rapporteur

Cell therapy, hydrogel, spheroids, in vitro tests, viability, confinement

Cell therapy represents a promising solution for the treatment of many pathologies. However, a significant limitation of cell therapy using allogenic cells (derived from donors) is the associated immune response, requiring the use of immunosuppressive treatments that have deleterious side effects. To overcome this limitation, cell encapsulation within a biomaterial appears to be an effective strategy to ensure immunoisolation. Adocia has developed the AdoShell® technology, an immunoprotective hydrogel designed for the encapsulation of pancreatic islets, intended for the treatment of type 1 diabetes. Its porosity allows the supply of oxygen and nutrients, the diffusion of produced insulin, as well as the removal of metabolic waste, while providing effective protection of encapsulated cells against mechanical stress and the host immune system. This encapsulation method has demonstrated its ability to preserve the viability and functionality of primary pancreatic islets or those derived from stem cells. The next step is to diversify the applications of the AdoShell® platform to other cell types. The main objective of this internship is therefore to evaluate the compatibility of AdoShell® with different cell types in vitro, particularly studying the impact of encapsulation on their viability and functionality. This approach aims to establish proof of concept for the use of AdoShell® as a versatile encapsulation platform, opening the way for new therapeutic approaches. In parallel, the characterization of AdoShell® will be further pursued by in vitro evaluation of the gel's ability to form an effective physical barrier to limit cellular proliferation as well as the migration of encapsulated cells. This work will strengthen AdoShell®'s potential as an innovative solution for therapeutic cell encapsulation.

Dylan SALGUES

FISA

EPISKIN — **LYON CEDEX 7 ● FRANCE**

Tuteur(s) / Supervisor(s) : Bénédicte FALLOU — **9/4/2023 ⟶ 9/25/2025**

Caractérisation d'un modèle " Full thickness" de peau reconstruite et mise au point d'un protocole d'évaluation anti-âges des actifs cosmétiques

Rapport confidentiel
Soutenance confidentielle

Peau, Derme, Vieillissement, Histologie, Biophysique, Cosmétique, L'Oréal, Episkin

Episkin développe et produit des modèles in vitro de peaux et muqueuses reconstruites en 3D, incluant des modèles full-thickness. Ces modèles comprennent les deux couches supérieures de la peau humaine : l'épiderme et le derme. Ainsi ils imitent la structure et les fonctions de la peau humaine, ce qui en fait des outils précieux pour étudier les effets des actifs cosmétiques. Le vieillissement cutané est un processus complexe influencé par des facteurs intrinsèques (génétique, stress oxydatif) et extrinsèques (UV, pollution). Le vieillissement intrinsèque conduit à une perte de la viabilité cellulaire et une diminution de la production de protéines de la matrice extracellulaire dans le derme, ce qui entraîne l'apparition de rides, un affinement cutané et une perte d'élasticité. Actuellement, si les mécanismes du vieillissement épidermique sont relativement bien compris, avec une bonne corrélation observée entre les modèles in vitro et les données ex vivo (biopsies de patients), les mécanismes spécifiques du vieillissement dermique restent moins clairs. Ceci rend la recherche sur le vieillissement dermique particulièrement importante pour le développement de stratégies anti-âge efficaces.
Ce projet s'inscrit dans le but de développer un couple "Modèle tissulaire/Méthode d'évaluation" permettant la valorisation des actifs anti-âge de L'Oréal ayant un effet positif sur le compartiment dermique, et plus spécifiquement pour répondre aux limitations actuelles de corrélation in vivo-in vitro. Ce projet est divisé en différents axes de travail :
1° : Caractérisation de différents modèles de peaux reconstruites afin de sélectionner le modèle le plus pertinent en fonction de ses propriétés intrinsèques.
2° : Identification de marqueurs spécifiques permettant d'observer le vieillissement dermique.
3° : Mise au point d'un protocole d'évaluation complet pouvant être proposé au clients internes et externes.

Characterization of a "full thickness" reconstructed skin model and development of an anti-aging evaluation protocol for cosmetic actives

Détruit après soutenance par le rapporteur

Skin, Dermis, Aging, Histology, Biophysics, Cosmetics, L'Oréal, Episkin

Episkin develops and produces 3D in vitro reconstructed skin and mucous membrane models, including full-thickness models. These models comprise the two upper layers of human skin: the epidermis and dermis. They mimic the structure and functions of human skin, making them valuable tools for studying the effects of cosmetic actives. Skin aging is a complex process influenced by intrinsic (genetics, oxidative stress) and extrinsic (UV, pollution) factors. Intrinsic aging leads to a loss of cell viability and a decrease in extracellular matrix protein production in the dermis, resulting in wrinkles, skin thinning, and loss of elasticity. While the mechanisms of epidermal aging are relatively well understood, with good correlation observed between in vitro models and ex vivo data (patient biopsies), the specific mechanisms of dermal aging remain less clear. This makes research on dermal aging particularly important for developing effective anti-aging strategies.
This project aims to develop a "Tissue Model/Evaluation Method" pair to showcase L'Oréal's anti-aging actives that positively affect the dermal compartment, specifically addressing the current limitations in in vivo-in vitro correlation. The project is divided into the following work streams:
1°: Characterization of different reconstructed skin models to select the most relevant model based on its intrinsic properties.
2°: Identification of specific markers to observe dermal aging.
3°: Development of a complete evaluation protocol that can be offered to internal and external clients.

Louna SARMIENTO

FISE Mobilité S9

BIOPROCESS RESEARCH

RUM ● AUTRICHE

Tuteur(s) / Supervisor(s) : Judy Km NG

3/3/2025 ⟶ 8/22/2025

Études de formulation et développement analytique pour les thérapies virales enveloppées

Rapport confidentiel
Soutenance confidentielle

Études de formulation, analyse de particules, vecteur viraux, criblage d'excipients, virométrie de flux

Un virus à ADN enveloppé appartenant à la famille des Poxvirus a été identifié comme un candidat prometteur pour le développement de vaccins et la thérapie par virus oncolytique. Des études récentes ont mis en évidence la grande stabilité de ces particules virales dans diverses conditions, ainsi que leur comportement lors d'une première évaluation d'excipients. Dans le cadre de ce PFE, ces données ont été exploitées pour mener une étude de formulation sur un modèle viral. Se basant sur les effets rapportés sur les particules virales et leur utilisation dans des formulations approuvées, 16 excipients ont été sélectionnés à partir de la littérature, incluant des sucres, des sels, des protéines, des tensioactifs, des solutions tampons et des acides aminés. Une fois les méthodes analytiques et le processus établis, notamment l'analyse de particules et les tests d'infectivité, un criblage systématique des excipients a été réalisé. L'objectif était d'évaluer leur impact sur la stabilité des particules et leur infectivité dans des conditions semblables à leur production, comme l'incubation à température ambiante et les cycles de congélation-décongélation. Par la suite, les interactions à deux niveaux entre les excipients sélectionnés ont été étudiées, avant d'optimiser une formulation spécifique à l'aide d'un plan d'expériences (DOE). Cette optimisation visait à préserver l'intégrité et la fonctionnalité des particules, tout en examinant leur comportement lors de la congélation et en garantissant une osmolalité physiologique. Enfin, pour approfondir la caractérisation des particules virales, la deuxième partie du projet a porté sur le développement d'une méthode de virométrie en flux. Cette technique permet d'analyser la taille et le phénotype des particules virales individuelles au sein d'une préparation.

Formulation studies and analytics development for enveloped virus therapeutics

Détruit après soutenance par le rapporteur

Formulation studies, particle analytics, viral vector vaccine, excipients screening, flow virometry

A large enveloped DNA virus from the Poxvirus family has been shown as a useful platform for vaccine development as well as oncolytic virus therapy. Recent publications demonstrated high stability of these virus particles in diverse conditions as well as their behavior in an initial excipient screening study. For this PFE, this information was leveraged to perform a formulation study for an exemplary virus. Based on reported effects on virus particles and prior use in approved formulations, 16 excipients were selected from literature: sugars, salts, proteins, surfactants, buffers and amino acids. Upon establishing the workflow and analytical methods, particularly particle analytics and infectivity assays, a systematic screening of single excipients was performed. This screening focused on their effects on particle stability and infectivity in process conditions, i.e. in solution at room temperature and during freeze-thaw cycles. Thereafter, two-level interaction between the screened additives was accessed, before optimization of a specific formulation by design of experiment (DOE), focusing on preserving particle integrity and function, but also examining freezing behavior, and keeping physiological osmolality. To facilitate further characterization of the virus particles, the second part of this project was to support the development of a flow virometry method to study the size and phenotype of single virus particles in a preparation.

Michael SLOYAN

FISE

TREEFROG

CANÉJAN ● FRANCE

Tuteur(s) / Supervisor(s) : Alexandros FRAGKOPOULOS

3/3/2025 ⟶ 8/29/2025

Conception d'un système de contrôle précis de la taille des capsules d'alginate pour la thérapie cellulaire

Rapport confidentiel
Soutenance confidentielle

Thérapie cellulaire, physique, encapsulation, mécanique des fluides, Rayleigh-Plateau

La technologie C-Stem de TreeFrog Therapeutics repose sur un procédé d'encapsulation des cellules iPSC dans des capsules d'alginate, créant un microenvironnement biomimétique adapté aux applications en médecine régénérative. Cette innovation surmonte les contraintes des systèmes de culture traditionnels, souvent délétères pour les iPSCs en raison des forces de cisaillement dans les bioréacteurs. Cependant, l'étape d'encapsulation elle-même impose aux cellules un stress mécanique bref mais intense. Elles sont propulsées à travers un nozzle infime, à grande vitesse, générant un jet liquide qui se fragmente en gouttelettes.
Malgré ces défis, qui s'intensifieront avec la montée en échelle, le cahier des charges des capsules reste strict.
Le projet, mené au sein de l'équipe Physique, vise à améliorer le contrôle de la taille des gouttelettes tout en minimisant les effets sur les cellules encapsulées. Une première phase du projet a porté sur une analyse détaillée de la dynamique du jet, afin de comprendre les relations entre la taille des capsules, la vitesse du jet et la fréquence de formation des gouttelettes. Des vidéos haute vitesse ont capturé ces phénomènes, tandis que des outils mathématiques, tels que la transformée de Fourier, ont été employés pour caractériser les profils de jet. Les données obtenues ont servi à développer des modèles fondés sur la théorie de l'instabilité de Rayleigh-Plateau.
Sur cette base, un système d'actuation mécanique, intégré modulairement au banc de test existant, a été conçu pour ajuster la taille des gouttelettes dès la source du jet. Ces modèles ont guidé les essais technologiques tout au long du développement. La conception de ce système, réalisée en collaboration avec le FabLab, s'est appuyée sur la modélisation CAO et l'impression 3D. Cette technologie, destinée à une application finale, soutient déjà les projets de R&D, facilitant l'interprétation des expériences sur la morphologie des capsules et d'autres paramètres de performance.

Design of a system for precise size control of alginate capsules for use in cell therapy

Détruit après soutenance par le rapporteur

Cell therapy, physics, encapsulation, fluid mechanics, Rayleigh-Plateau

TreeFrog Therapeutics' C-Stem technology encapsulates iPSCs in alginate capsules, which provide a biomimetic microenvironment with various applications in regenerative medicine. This innovation overcomes one of the main limitations of traditional bioreactor culture systems, which exert detrimental shear stresses on cells. However, the pre-culture encapsulation step introduces brief but intense mechanical stress of its own, as cells are propelled through a nozzle at high velocity, forming a liquid jet that breaks into capsule-sized droplets.
Despite these inherent challenges-which intensify with scale-up-the capsule size requirements, essential for proper cell amplification, remain stringent.
The internship project, carried out within the Physics team, aims to improve control over droplet size while minimizing effects on the encapsulated cells. The first phase of the project was dedicated to a detailed analysis of jet dynamics, exploring between capsule size, jet velocity, and droplet formation frequency. High-speed video captured these phenomena in detail, while mathematical tools such as Fourier transforms were used to characterize jet profiles. These data supported the development of models grounded in Rayleigh-Plateau instability theory.
Building on these foundations, a mechanical actuation system, modularly integrated into our existing test bench, was designed to adjust droplet size at the jet source. Technological testing has been guided throughout by these instability-based models. The design of this actuation system, developed in collaboration with the FabLab, involved CAD modeling and 3D printing. While this technology is ultimately intended for production-scale use, it has already informed ongoing R&D investigations into capsule morphology and other performance parameters.

Mathis TALEC

CP

SUEZ Eau France

BIARRITZ ● FRANCE

Tuteur(s) / Supervisor(s) : Sarah ITOIZ

10/1/2024 → 9/26/2025

Approches moléculaires pour l'évaluation de la qualité microbiologique des eaux de baignade

Rapport confidentiel
Soutenance confidentielle

Biologie moléculaire, Microbiologie, Environnement, Qualité des eaux de baignade, Norovirus

Rivages Pro Tech, filiale de Suez, est spécialisée dans la surveillance de la qualité microbiologique des eaux de baignade, à travers deux pôles : la ligne de service " Vague Submersion " et la ligne de service " Qualité/ Santé ", à laquelle est rattaché ce projet de fin d'études.
Le premier volet du projet s'est inscrit dans le cadre de l'optimisation de la méthode brevetée Gen-Spot®, développée par Suez. Cette technologie permet le suivi moléculaire des indicateurs bactériens réglementaires, Escherichia coli et entérocoques intestinaux, dans les eaux de baignade. Un travail d'optimisation et de traitement de données a été mené sur les étapes d'extraction des ARN, en testant différents protocoles et kits commerciaux. Un outil de gestion des fichiers internes a également été développé sous R afin d'automatiser et de faciliter le traitement des données issues des analyses. Enfin, la méthode Gen-Spot® a été appliquée dans un cadre opérationnel pour la surveillance quotidienne de la qualité microbiologique de plusieurs sites de baignade.
À la suite de l'épisode de contamination des huîtres par les norovirus, survenu en 2023 dans le bassin d'Arcachon, les limites des protocoles actuels de quantification ont été mises en évidence. Ces méthodes détectent à la fois les particules virales infectieuses et non infectieuses, ce qui conduit à une surestimation du risque sanitaire et à d'importantes pertes économiques. Dans ce contexte, le second volet du projet a porté sur une revue bibliographique des norovirus et de leurs proxies, notamment les bactériophages ARN F-spécifiques. Ce travail de veille a permis de proposer un plan expérimental et de rédiger un protocole permettant de quantifier les norovirus infectieux dans l'environnement, dans le but d'améliorer la gestion du risque sanitaire et de limiter les fausses alertes.

Molecular Approaches for Assessing the Microbiological Quality of Bathing Waters

Détruit après soutenance par le rapporteur

Molecular biology, Microbiology, Environment, Bathing water quality, Norovirus

Rivages Pro Tech, a subsidiary of Suez, specializes in monitoring the microbiological quality of bathing waters through two divisions: the "Wave Submersion" service line and the "Quality/Health" service line, to which this final year project is attached.
The first part of the project focused on optimizing the patented Gen-Spot® method, developed by Suez. This technology enables molecular monitoring of regulatory bacterial indicators, Escherichia coli and intestinal enterococci, in bathing waters. Optimization and data processing work was carried out on the RNA extraction steps by testing different protocols and commercial kits. Additionally, an internal file management tool was developed using R to automate and facilitate data processing from the analyses. Finally, the Gen-Spot® method was applied operationally for the daily microbiological quality monitoring of several bathing sites.
Following the 2023 norovirus contamination event in oysters in the Arcachon basin, the limitations of current quantification protocols were highlighted. These methods detect both infectious and non-infectious viral particles, leading to an overestimation of health risks and significant economic losses. In this context, the second part of the project involved a literature review on noroviruses and their proxies, notably F-specific RNA bacteriophages. This monitoring work led to the proposal of an experimental plan and the drafting of a protocol to quantify infectious noroviruses in the environment, aiming to improve health risk management and reduce false alarms.

Pauline TERRIEN

CP

SANOFI PASTEUR — **MARCY L'ÉTOILE ● FRANCE**

Tuteur(s) / Supervisor(s) : Adrien NOUGAREDE

10/1/2024 ⟶ 10/3/2025

Développement de méthodes de caractérisation des candidats vaccins ARNm

Rapport confidentiel
Soutenance confidentielle

Vaccins, protéines antigéniques, localisation, HTRF, microscopie

En raison de leur rapidité de développement, les vaccins ARNm sont devenus une alternative prometteuse aux approches vaccinales conventionnelles. Leur efficacité repose sur la capacité de la protéine antigénique, traduite à partir de l'ARNm, à induire une réponse immunitaire spécifique. L'objectif du vaccin est de protéger l'hôte durablement en induisant la mémoire immunitaire, notamment par l'activation des lymphocytes TCD4+ et lymphocytes B. Pour ce faire, les protéines antigéniques doivent être préférablement sécrétées ou membranaires. L'objectif de ce stage était donc de développer des méthodes de caractérisation de la localisation des protéines antigéniques en utilisant deux modèles connus : une protéine membranaire du virus influenza (HA) et l'érythropoïétine humaine (hEPO), une protéine sécrétée. Au cours de mon stage, j'ai ainsi développé (i) une méthode d'imagerie sur cellules vivantes pour suivre la dynamique d'expression membranaire suite à la délivrance de l'ARNm et (ii) une méthode de quantification des protéines sécrétées dans le surnageant de culture par HTRF. Les deux méthodes développées au cours de mon stage ont été conçues avec une vision d'application à différentes protéines antigéniques pouvant être utilisées dans des projets de vaccins basés sur la technologie ARNm. Ces techniques viendront compléter les méthodes utilisées par l'équipe pour caractériser la localisation antigénique. Enfin, ces avancées contribuent à optimiser le processus d'évaluation des candidats ARNm chez Sanofi, permettant d'accélérer le développement de nouveau vaccins ARNm.

Developement of characterization assays for mRNA vaccine candidates

Détruit après soutenance par le rapporteur

Vaccines, antigenic proteins, localization, HTRF, microscopy, Live Cell Imaging

mRNA vaccines have emerged as a promising alternative to conventional vaccine approaches due to their rapid development capabilities. The efficacy of these vaccines relies on the ability of antigenic proteins, translated from mRNA, to induce specific immune responses. Effective vaccines must protect the host by establishing durable immune memory, particularly through the activation of TCD4+ lymphocytes and B lymphocytes. This requires antigenic proteins to be preferably secreted or membrane bound. The aim of this internship was to develop methods to characterize antigenic protein localization using two known models: a membrane protein from the influenza virus (HA) and human erythropoietin (hEPO), a secreted protein. During my internship, I developed (i) a live-cell imaging method to monitor membrane expression dynamics following mRNA delivery and (ii) a method to quantify secreted proteins in culture supernatant using HTRF. Both methods were designed with the vision of application to various antigenic proteins that could be used in mRNA vaccine projects. These techniques will complement the team's existing methods for characterizing antigenic localization. Finally, these advances contribute to optimizing the evaluation process of mRNA candidates at Sanofi, enabling faster development of new mRNA vaccines.

Abel TEULE

FISA

INSTITUT PASTEUR

PARIS CEDEX 15 ● FRANCE

Tuteur(s) / Supervisor(s) : Nadia IZADI-PRUNEYRE

9/11/2023 ⟶ 9/26/2025

Étude des interactions moléculaires d'un système transmembranaire bactérien

Rapport confidentiel
Soutenance confidentielle

Bactéries Gram-négatif, protéines, peptidoglycane, interactions moléculaires, microcalorimétrie d'ITC

Les bactéries à Gram négatif possèdent une enveloppe composée de deux membranes, une dite externe et une interne, séparées par l'espace périplasmique. Cette enveloppe contient des machines macromoléculaires qui régulent et facilitent les échanges entre la bactérie et son environnement. Les nutriments rares ou de taille importante sont importés par des transporteurs spécifiques de la membrane externe via un processus actif qui nécessite de l'énergie provenant du gradient de protons de la membrane interne. Cependant, les mécanismes moléculaires assurant le transfert d'énergie ainsi que les étapes précises de l'import des nutriments restent encore mal élucidés.
Pour comprendre ces mécanismes, nous avons étudié l'interaction entre les composants du système Has (Heme acquisition system) développé par des bactéries commensales et pathogènes telles que Serratia, Pseudomonas et Yersinia. Ce système est responsable de l'import d'hème, la principale source de fer pour les bactéries chez les mammifères. Il est composé d'un moteur moléculaire inséré dans la membrane interne de la bactérie, formé par le complexe ExbB-ExbD, qui transmet l'énergie dérivée du gradient de protons, à travers le périplasme via HasB (une protéine de la famille TonB) au transporteur HasR localisé dans la membrane externe. Nous supposons qu'un changement de conformation de ce dernier mène à l'ouverture d'un canal pour l'entrée des nutriments.
Ici, en utilisant le titrage calorimétrique isotherme (ITC), nous étudions l'interaction entre ces différentes protéines et évaluons le rôle du peptidoglycane ou la paroi cellulaire dans cette interaction. Deux formes de peptidoglycane ont été testées, des chaines simples et des polymères sous forme de sacculi.

Study of molecular interactions of a bacterial transmembrane system

Détruit après soutenance par le rapporteur

Gram-negative bacteria, proteins, peptidoglycan, molecular interaction, isothermal titration calorimetry

Gram-negative bacteria are surrounded by an envelope composed of two membranes, the outer and inner membranes, separated by the periplasmic space. This envelope contains macromolecular machines that regulate and facilitate exchanges between the bacterium and its environment. Scarce nutrients are imported through specific transporters in the outer membrane via an active process that requires energy from the proton motive force of the inner membrane. However, the molecular mechanisms of the energy transfer by which the nutrient is imported remain poorly understood.
To understand these mechanisms, we have investigated the interaction between components of the Has (Heme acquisition system) system developed by commensal and pathogenic bacteria such as Serratia, Pseudomonas and Yersinia species. This system is responsible for the import of heme, the main source of iron for bacteria in mammalians. It is composed of a molecular motor inserted in the bacterial inner membrane formed by ExbB-ExbD complex which transmits the proton-motive force derived energy through the periplasm via HasB - a TonB-like protein - to the outer membrane transporter HasR supposedly opening a channel for nutrient entry.
Here, by using isothermal titration calorimetry (ITC), we study the interaction between these different proteins and evaluate the role of peptidoglycan or the cell wall in this interaction. Both small chains and polymer of peptidoglycan in sacculi are tested.

Gabrielle THUBERT

FISA

LES LABORATOIRES SERVIER INDUSTRIE — **GIDY ● FRANCE**

Tuteur(s) / Supervisor(s) : Julie DUBERT — **9/11/2023 ⟶ 9/26/2025**

De la notification de changement à l'implémentation industrielle: gestion de projet et coordination qualité d'un change control majeur.

Rapport confidentiel
Soutenance confidentielle

Gestion de projet, Change Control, Coordination transverse, implémentation pharmaceutique, approche multidisciplinaire.

Ce projet de fin d'étude repose sur la gestion d'un Change Control suite à la modification du procédé de synthèse d'un principe actif (PA) rentrant dans la fabrication de spécialités pharmaceutiques produites sur le site de Gidy. Ce changement englobe plusieurs axes d'intérêt comme l'introduction de nouveaux solvants, la génération de nouvelles impuretés ainsi que la révision des spécifications du PA et des produits finis associés. Ce Change Control s'inscrit dans un contexte d'urgence nécessitant une coordination efficace et une mise en oeuvre rapide afin de ne pas perturber le flux de production des produits finis et leur mise sur le marché. La réactivité et la rigueur sont essentielles pour garantir la continuité industrielle et la conformité qualité.
Une coordination transverse a été mise en place entre les services concernés pour évaluer les impacts analytiques, réglementaires, industriels et qualité. Les enjeux majeurs incluaient la caractérisation des nouvelles impuretés, le développement de méthodes analytiques, l'évaluation réglementaire, la gestion des stocks de sécurité et la projection d'industrialisation.
Une structuration rigoureuse a notamment été mise en oeuvre via l'élaboration de macro-plannings, l'animation de réunions de coordination, la préparation de supports de communication pour les différentes instances de décisions, le suivi des actions critiques et les échanges avec le fabricant.

From change notification to an industrial implementation: project management and quality coordination for a major change control.

Détruit après soutenance par le rapporteur

Project management, change control, cross-functional coordination, pharmaceutical implementation, multidisciplinary approach.

This end-of-study project is based on the management of a Change Control following the modification of the synthesis process of an active ingredient (API) used in the manufacture of pharmaceutical specialties produced on the Gidy site. This change encompasses several areas of interest, such as the introduction of new solvents, the generation of new impurities, and the revision of the specifications of the API and associated finished products. This Change Control is part of an emergency context requiring efficient coordination and rapid implementation so as not to disrupt the production flow of finished products and their marketing. Responsiveness and rigor are essential to guarantee industrial continuity and quality compliance.
Transverse coordination was set up between the departments concerned to assess the analytical, regulatory, industrial and quality impacts. Major challenges included characterization of new impurities, development of analytical methods, regulatory assessment, safety stock management and industrialization projections.
A rigorous structuring process was put in place, involving the development of macro-plannings, the organization of coordination meetings, the preparation of communication media for the various decision-making bodies, the monitoring of critical actions and exchanges with the manufacturer.

LEANBIO SL

BARCELONE ● ESPAGNE

Tuteur(s) / Supervisor(s) : Laia NAVARRO IRÚN

3/3/2025 → 8/29/2025

Validation d'un procédé conforme aux bonnes pratiques de fabrication pour la production d'une protéine biosimilaire

Validation of a gmp-compliant process for the production of a biosimilar protein

Rapport confidentiel
Soutenance confidentielle

Détruit après soutenance par le rapporteur

Résumé Confidentiel

Confidential summary

Margot TRIOLLE

FISE

Sarah TURPIN

FISE

QUANTOOM BIOSCIENCES — **NIVELLES ● BELGIQUE**

Tuteur(s) / Supervisor(s) : Sébastien DALMAT — **3/3/2025 ⟶ 8/29/2025**

Explorer de nouveaux horizons dans la purification de l'ARN : évaluation de méthodes alternatives

Rapport confidentiel
Soutenance confidentielle

Purification, ARN, intégrité, rendement, optimisation

Le but de ce stage est de déterminer une méthode de purification permettant d'améliorer la qualité en terme d'intégrité de deux types d'ARN : l'ARN messager (ARNm) et l'ARN auto-réplicatif (saRNA), tous deux issus de la transcription in vitro (IVT), tout en assurant au maximum les autres critères qualitatifs et quantitatifs. Pour cela, différentes méthodes de purification sont évaluées. L'intégrité correspond à la préservation de la structure complète, sans dégradation ni fragmentation, ce qui est essentiel pour garantir la bonne fonction des ARNs dans les applications thérapeutiques futures. En effet, une dégradation partielle de l'ARN pourrait nuire à son efficacité, notamment dans le cadre de la formulation de vaccins. Actuellement, l'intégrité mesurée de l'ARN messager est d'environ 80%, et l'un des objectifs serait de se rapprocher des 100%. Pour l'ARN auto-réplicatif, les valeurs d'intégrité sont plus faibles, autour de 70%, et il s'agirait ici de les améliorer jusqu'à au moins 80%. Contrairement à l'ARN messager classique, le saRNA possède une séquence codant pour un réplicon, qui fonctionne comme une machinerie inspirée de la réplication virale et qui permet à l'ARN de s'auto-amplifier dans les cellules après administration. Cette propriété pourrait offrir un avantage majeur en réduisant les doses nécessaires pour obtenir une réponse immunitaire adéquate et en limitant l'utilisation de vecteurs qui délivrent l'ARN dans le corps tels que les liposomes cationiques. Cependant, le saRNA est significativement plus long (près de 10 kb), ce qui rend sa purification à grande échelle plus complexe. Dans le cadre de ce stage, deux méthodes sont comparées : la purification sur billes magnétiques oligo d(T) et la chromatographie sur colonne PrimaS® via la machine ÄKTA(TM). Pour chaque méthode, les protocoles ont été ajustés et optimisés au fil des essais expérimentaux afin d'améliorer le rendement. L'intégrité des ARN purifiés est ensuite évaluée par Fragment Analyzer (FA), permettant une analyse précise et reproductible.

Exploring new horizons in RNA purification : evaluating alternative methods

Détruit après soutenance par le rapporteur

Purification, RNA, integrity, yield, optimization

The aim of this internship is to evaluate and compare different methods for purifying two types of RNA : messenger RNA (mRNA) and self-amplifying RNA (saRNA), both produced by in vitro transcription (IVT). The primary objective is to identify the method that most effectively preserves the integrity of these RNAs during purification. Integrity corresponds to the preservation of the complete structure, without degradation or fragmentation, which is essential to guarantee the correct function of RNAs in future therapeutic applications. Partial degradation of the RNA could impair its efficacy, particularly in the formulation of vaccines. Currently, the measured integrity of messenger RNA is around 80%, and one of the objectives would be to get closer to 100%. For self-amplifying RNA, integrity values are lower, at around 70%, and the aim would be to improve them to at least around 80%. Unlike conventional messenger RNA, saRNA has a sequence coding for a replicon, which functions like a viral replication-inspired machinery and enables the RNA to self-amplify in cells after administration. This property could offer a major advantage by reducing the doses needed to elicit an adequate immune response and limiting the use of vectors that deliver RNA into the body, such as cationic liposomes. However, saRNA is significantly longer (nearly 10 kb), making large-scale purification more complex. This internship compares two methods :purification on Oligo d(T) magnetic beads and chromatography on PrimaS® columns using the ÄKTA(TM) system. For each method, the protocols were adjusted and optimized during the experimental trials to improve the yield. The integrity of purified RNAs is then measured by Fragment Analyzer (FA), enabling precise and reproducible analysis.

Téo
VALDEVIT

FISA

CATALENT LIMOGES SAS — **LIMOGES ● FRANCE**

Tuteur(s) / Supervisor(s) : Caroline BAYART

6/3/2024 ⟶ 9/26/2025

Développement de méthodes LCMS pour l'analyse de biomolécules et d'excipients de formulation

Rapport confidentiel
Soutenance confidentielle

LCMS (Liquid Chromatography - Mass Spectrometry)
Polysorbates
Produits de dégradation
Peptides thérapeutiques
Développement analytique

Dans le cadre de mon projet de fin d'études, réalisé au cours d'une alternance d'un an chez Catalent Pharma Solutions à Limoges, j'ai mené un projet portant sur deux axes principaux : le développement d'une méthode d'analyse des polysorbates par chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse (LC-MS), et l'identification de produits de dégradation de peptides à l'aide de la même technique.
Les polysorbates sont des agents tensioactifs largement utilisés pour stabiliser les anticorps ou peptides en solution. Leur dégradation peut avoir un impact critique sur la qualité des produits pharmaceutiques. Cependant, ces composés n'absorbant pas dans l'UV, ils ne sont pas détectables par UHPLC-UV, ce qui rend nécessaire le recours à la spectrométrie de masse. Mon rôle a été de développer une méthode LC-MS adaptée à l'analyse des polysorbates, permettant de caractériser leurs structures et de suivre leurs dégradations sous différentes conditions (hydrolyse acide/alcaline, oxydation, influence des tampons).
Le second volet du projet concerne l'analyse LC-MS de peptides afin d'identifier les impuretés et produits de dégradation présents dans les échantillons. Ce travail consiste à examiner chaque pic chromatographique, comparer la masse mesurée à celle du peptide de référence, calculer les écarts exacts, et proposer une hypothèse structurale associée : perte de résidus en N-ter ou C-ter, ajout de groupements simples, formation d'adduits ioniques, etc. Ces écarts sont ensuite interprétés chimiquement afin de déterminer l'origine des impuretés, qu'elles soient liées à la synthèse ou à la dégradation.

Development of LC-MS methods for the analysis of biomolecules and formulation excipients

Détruit après soutenance par le rapporteur

LCMS (Liquid Chromatography - Mass Spectrometry)
Polysorbates
Degradation products
Therapeutic peptides
Analytical method development

As part of my final-year project, conducted during a one-year work-study placement at Catalent Pharma Solutions in Limoges, I carried out a project focused on two main objectives: the development of an analytical method for polysorbates using liquid chromatography coupled with mass spectrometry (LC-MS), and the identification of peptide degradation products using the same technique.
Polysorbates are surfactants widely used to stabilize antibodies or peptides in solution. Their degradation can significantly impact the quality of pharmaceutical products. However, since these compounds do not absorb UV light, they cannot be detected using UHPLC-UV systems, making mass spectrometry essential. My role was to develop a suitable LC-MS method to analyze polysorbates, characterize their structures, and monitor their degradation under various conditions (acidic and alkaline hydrolysis, oxidation, and buffer effects).
The second part of the project involved the LC-MS analysis of peptides to identify impurities and degradation products in the samples. This task consisted of reviewing each chromatographic peak, comparing the measured mass with that of the reference peptide, calculating exact mass shifts, and proposing a likely structural modification: loss of residues at the N- or C-terminus, addition of small chemical groups, formation of ionic adducts, etc. These mass differences were then interpreted chemically to trace the origin of the impurities, whether from synthesis or degradation.

Céline YATIM

CP

SANOFI AVENTIS RECHERCHE & DEVELOPPEMENT

VITRY SUR SEINE ● FRANCE

Tuteur(s) / Supervisor(s) : Angélique BIANCOTTO

10/1/2024 ⟶ 9/26/2025

Caractérisation translationnelle des MICI par une approche multi-omique intégrée

Rapport confidentiel
Soutenance confidentielle

Maladies inflammatoires chroniques de l'intestin, maladie de Crohn, colite ulcéreuse, cytométrie de flux spectrale, immunophénotypage, multi-omique, métadonnées cliniques

Les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI), incluant la maladie de Crohn et la colite ulcéreuse, sont dues à une inflammation chronique du tractus digestif, liée à une dérégulation immunitaire. Leur hétérogénéité clinique et immunologique nécessite des approches intégratives combinant analyses cellulaires, moléculaires et données cliniques. Les cellules mononucléées du sang périphérique (PBMCs) permettent une exploration peu invasive de l'immunité systémique, mais les méthodes classiques peinent à en capturer la diversité ou à la relier à l'état clinique.

Ce projet translationnel utilise la cytométrie de flux spectrale pour immunophénotyper les PBMCs de 30 patients atteints de MICI (20 colite ulcéreuse, 10 Crohn), accompagnés de métadonnées cliniques détaillées (scores CDAI et Mayo). Un panel de 31 marqueurs a été conçu, titré et validé sur des PBMCs de donneurs sains afin d'identifier les principales sous-populations immunitaires innées et adaptatives. Les échantillons patients ont ensuite été analysés pour identifier des profils immunitaires associés au type et à l'activité de la maladie. L'interprétation est conduite en lien avec des analyses transcriptomiques (CITE-seq) et protéomiques (dosage d'analytes sériques) menées par des équipes partenaires. En croisant les données immunitaires, cliniques et omiques, ce travail vise à identifier des signatures immunitaires associées à la maladie et des biomarqueurs potentiels, en appui à une médecine personnalisée des MICI.

Translational characterization of IBD through integrated multi-omics

Détruit après soutenance par le rapporteur

Inflammatory Bowel Disease, Crohn's disease, ulcerative colitis, spectral flow cytometry, immunophenotyping, multi-omics, clinical metadata

Inflammatory Bowel Disease (IBD), encompassing Crohn's disease and ulcerative colitis, is driven by chronic inflammation of the gastrointestinal tract due to immune dysregulation. Its clinical and immunological heterogeneity calls for integrative approaches that combine cellular, molecular, and clinical data. Peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) offer a minimally invasive means to investigate systemic immune responses, but conventional methods struggle to capture their diversity or link them meaningfully to clinical status.

This translational project employs spectral flow cytometry to immunophenotype PBMCs from 30 IBD patients (20 ulcerative colitis, 10 Crohn), with detailed clinical metadata including CDAI and Mayo scores. A 31-marker antibody panel was developed, titrated, and validated on healthy donor PBMCs to identify key innate and adaptive immune subsets. Patient samples were then analyzed to uncover immune profiles associated with disease type and activity. Interpretation is integrated with transcriptomic (CITE-seq) and proteomic (serum analyte quantification) data generated by partnering teams. By aligning immune, clinical, and multi-omic data, this work aims to identify disease-associated immune signatures and potential biomarkers in support of personalized IBD medicine.