



**HAL**  
open science

## Stabilité des albumines de colza : influence des conditions d'extraction, impact sur la protéolyse enzymatique et sur les propriétés fonctionnelles

Romain Kapel, Marie-Hélène Ropers

### ► To cite this version:

Romain Kapel, Marie-Hélène Ropers. Stabilité des albumines de colza : influence des conditions d'extraction, impact sur la protéolyse enzymatique et sur les propriétés fonctionnelles. Adebitech - Stabilité et formulation des protéines et des peptides, Adebitech. FRA., Sep 2015, Romainville, France. hal-02793402

**HAL Id: hal-02793402**

**<https://hal.inrae.fr/hal-02793402>**

Submitted on 5 Jun 2020

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



*Colloque Adebiotech*

# Stabilité et formulation des protéines et des peptides

*23 & 24 septembre 2015*

**Biocitech, Cité des entreprises de santé et de biotechnologies**

*93230 Romainville*

A horizontal banner with a blue background and a protein structure illustration. On the left is the Adebiotech logo. The main text reads "Stabilité et formulation des protéines et des peptides :". To the right, there is a red-bordered box containing the word "PROTEINOV" and a diamond-shaped graphic with a red and white capsule and the word "biosphère". Further right, the text "Enjeux et Applications" is displayed. At the bottom left of the banner, the text "BIOCITECH, CITÉ DES ENTREPRISES DE SANTÉ ET DE BIOTECHNOLOGIES, ROMAINVILLE" is written in small letters.

adebiotech

23 & 24 septembre 2015

Stabilité et formulation  
des protéines et des peptides :

PROTEINOV

Enjeux  
et  
Applications

BIOCITECH, CITÉ DES ENTREPRISES DE SANTÉ ET DE BIOTECHNOLOGIES, ROMAINVILLE

Colloque Adebiotech

**Stabilité et formulation  
des protéines et des peptides :  
Enjeux et applications**

23 et 24 septembre 2015

*Biocitech, Cité des entreprises de santé et de biotechnologies, Romainville*

## Table des matières

<b>Préface .....</b>	<b>5</b>
<b>Programme détaillé .....</b>	<b>6</b>
<b>Résumés des Conférences .....</b>	<b>11</b>
<i>JOËL RICHARD - IPSEN R&amp;D, DREUX .....</i>	<i>11</i>
<i>JACQUES DUMAS - SANOFI R&amp;D, VITRY-SUR-SEINE .....</i>	<i>11</i>
<i>ALAIN ASTIER - HOPITAL HENRI MONDOR, CRETEIL .....</i>	<i>12</i>
<i>DENIS CHÉREAU - IMPROVE SAS, DURY .....</i>	<i>12</i>
<i>CHRISTOPHE TRIBET - ECOLE NORMALE SUPERIEURE, PARIS .....</i>	<i>13</i>
<i>CLAUDINE MAYER - UNIVERSITE PARIS DIDEROT, INSTITUT PASTEUR, PARIS .....</i>	<i>14</i>
<i>ROMAIN KAPEL - UNIVERSITE DE LORRAINE, NANCY ET MARIE-HELENE ROPERS - INRA, NANTES .....</i>	<i>14</i>
<i>JEAN-JACQUES SNAPPE - INGREDIA, ARRAS .....</i>	<i>15</i>
<i>BENOIT CUDENNEC - INSTITUT CHARLES VIOLLETTE, IUT-A, UNIVERSITE DE LILLE ET CHRISTOPHE FLAHAUT - INSTITUT CHARLES VIOLLETTE, UNIVERSITE D'ARTOIS .....</i>	<i>16</i>
<i>DARIO NERI - ECOLE POLYTECHNIQUE, ZURICH (SUISSE) .....</i>	<i>16</i>
<i>SAMIR SAFI - MALVERN, ORSAY .....</i>	<i>17</i>
<i>MAUD LARREGOLA - PLATFORM PEPTLAB, CERGY PONTOISE .....</i>	<i>18</i>
<i>GÉRY VAN VYNCHT - QUALITY ASSISTANCE, R&amp;D DEPARTMENT, STRATEGY &amp; INNOVATION, DONSTIENNES (BELGIQUE) .....</i>	<i>18</i>
<i>MICHEL DESMADRIL - INSTITUT DE BIOLOGIE INTEGRATIVE DE LA CELLULE (I2BC), ORSAY .....</i>	<i>19</i>
<i>PATRICK BRON - CENTRE DE BIOLOGIE STRUCTURALE, MONTPELLIER .....</i>	<i>20</i>
<i>GERALD PERRET - LFB BIOTECHNOLOGIES, LES ULIS .....</i>	<i>20</i>
<i>GILLES PONCHEL - INSTITUT GALIEN CNRS/PARIS-SUD, CHATENAY-MALABRY .....</i>	<i>21</i>
<i>JEAN-EUDES VENDEVILLE - SERVICE RECHERCHE ET DEVELOPPEMENT, INNOV'IA, LA ROCHELLE .....</i>	<i>22</i>
<i>JEAN-PASCAL ZAMBAUX - HYDRO-FILL SAS, MARTILLAC .....</i>	<i>22</i>
<i>FRANK BOURY - INSERM 1066, FACULTE DE PHARMACIE, ANGERS .....</i>	<i>23</i>
<b>Résumés des posters .....</b>	<b>25</b>
<i>NICOLAS MIGNARD - WYATT TECHNOLOGY FRANCE .....</i>	<i>25</i>
<i>NICOLAS MIGNARD - WYATT TECHNOLOGY FRANCE .....</i>	<i>25</i>
<i>THIBAUT FRACHON - LMGP .....</i>	<i>26</i>
<i>KARIM CHOUCANE - LMGP .....</i>	<i>26</i>
<i>GÉRARD MEUNIER - FORMULATION .....</i>	<i>27</i>
<i>GAUTIER DECOCK - EUROFINS .....</i>	<i>28</i>
<i>GAUTIER DECOCK - EUROFINS .....</i>	<i>28</i>
<i>ANGELITA REBOLLO GARCIA - INSERM .....</i>	<i>28</i>
<i>PASCAL DEGRAEVE - UNIVERSITE LYON 1 - LABORATOIRE BIODYMIA .....</i>	<i>29</i>
<i>TATIANA ISABET - SYNCHROTRON SOLEIL .....</i>	<i>30</i>
<i>SEBASTIEN IGONET - CALIXAR SAS .....</i>	<i>31</i>
<i>KARINE PERON - MERCK MILLIPORE .....</i>	<i>31</i>
<i>THOMAS PERRIER - CARLINA TECHNOLOGIES SAS .....</i>	<i>32</i>
<i>JOS DE KEIJZER - FREESLATE .....</i>	<i>32</i>
<i>SANDRA CORTÈS - SYNTHELIS .....</i>	<i>33</i>
<i>DIDIER CLENET - SANOFI-PASTEUR .....</i>	<i>33</i>
<i>GERARD MEUNIER - FORMULATION .....</i>	<i>34</i>

**Parcours des intervenants et des membres des comités ..... 35**

ALAIN ASTIER .....	35
FRANK BOURY .....	35
PATRICK BRON .....	36
FRÉDÉRIC CAZALS .....	36
DENIS CHÉREAU .....	36
DIDIER CLENET .....	36
PATRICK COUVREUR .....	37
BENOIT CUDENNEC .....	37
MICHEL DESMADRIL .....	37
PASCAL DHULSTER .....	38
JACQUES DUMAS .....	38
CHRISTOPHE FLAHAUT .....	38
SYLVAIN HUILLE .....	39
ROMAIN KAPEL .....	39
DANIELLE LANDO .....	39
MAUD LARREGOLA .....	39
CLAUDINE MAYER .....	39
NICOLAS MIGNARD .....	40
DARIO NERI .....	40
ANNA MARIA PAPINI .....	40
GERALD PERRET .....	40
SYLVAIN PEYRACHE .....	41
GILLES PONCHEL .....	41
JOËL RICHARD .....	41
MARIE-HÉLÈNE ROPERS .....	41
SAMIR SAFI .....	41
PATRICK SANTAMBIEN .....	42
JEAN-JACQUES SNAPPE .....	42
CLARISSE TOITOT .....	42
CHRISTOPHE TRIBET .....	42
REMI URBAIN .....	42
GÉRY VAN VYNCHT .....	43
JEAN-EUDES VENDEVILLE .....	43
WILLIAM VICKERY .....	43
JEAN-PASCAL ZAMBAUX .....	43

**Comités ..... 45**

**Liste des Participants ..... 46**





## *Préface*

### **Mot de bienvenue**

AdebioTech est ravie de vous accueillir au colloque **Stabilité et formulation des protéines et des peptides**.

AdebioTech a depuis de nombreuses années accordé une grande importance aux protéines et aux peptides en organisant des rencontres :

- Peptides issus des procédés d'hydrolyse : Filières Industrielles - octobre 2012
- Technologies innovantes en séparation industrielle des protéines - octobre 2013
- Enzymes Innovations Industries - octobre 2014

Pour tous les sujets traités, les applications ont toujours été privilégiées et ont permis des échanges fructueux entre experts des domaines académiques et industriels.

Le sujet abordé aujourd'hui et demain se caractérise aussi par l'importance de la stabilité des protéines et des peptides pour l'industrie pharmaceutiques (médicaments et dispositifs médicaux) mais aussi pour l'industrie agroalimentaire et l'industrie du diagnostic.

A travers les communications, les posters et les entreprises qui ont pris des stands, il sera possible de discuter, d'échanger et d'apporter des solutions concrètes à une thématique qui a souvent été négligée par manque de méthodologies adaptées.

Que ce colloque apporte à tous des échanges fructueux et des collaborations utiles à la réalisation de leurs projets.

Nous remercions le Comité Scientifique, les intervenants et l'ensemble des participants qui contribuent largement au succès de cette manifestation.

Excellent colloque à tous.

Danielle Lando  
Vice-présidente AdebioTech

Manuel Gea  
Président AdebioTech

## Programme détaillé

**Mercredi 23 Septembre 2015**

9h30 Accueil café

---

### 10h00 Session 1 - Enjeux et problématiques, du procédé au marché

---

Modérateur : **Rémi URBAIN**, Adebitech, Romainville

10h00 **Joël RICHARD**, IPSEN R&D, Dreux

***Anticipating aggregation propensity of proteins at early formulation development stage: how to support a data-based approach for immunogenicity risk assessment***

10h45 **Jacques DUMAS**, Sanofi R&D, Vitry-sur-Seine

***BioManufacturing, CMC aspects of the biotherapeutics and associated reagents***

11h15 **Alain ASTIER**, Hôpital Henri Mondor, Créteil

***Stability of proteins in daily hospital practice: consequences for formulation***

11h45 **Denis CHÉREAU**, IMPROVE SAS, Dury

***Plant proteins : challenge for future***

12h15 - 14h00 Buffet/Posters/Exposition

---

### 14h00 Session 2 - Outils d'études pour la stabilité des protéines et peptides

---

Modérateur : **Pascal DHULSTER**, Institut Charles Viollette - Université Lille 1, Lille

14h00 **Christophe TRIBET**, Ecole Normale Supérieure, Paris

***Etudier in situ l'agrégation de protéines: intérêts et limites des méthodes de diffusion de rayonnement***

14h45 **Claudine MAYER**, Université Paris Diderot, Institut Pasteur, Paris

***Conformational stability of proteins: understanding and predicting the 3D structure***

15h15 **Romain KAPEL**, Université de Lorraine, Nancy et **Marie-Hélène ROPERS**, INRA, Nantes

***Stabilité structurale et fonctionnelle des protéines en alimentation humaine: influence des procédés d'extractions, des conditions physico-chimiques et de l'inclusion dans des matrices alimentaires***

16h00 - 16h30 Pause café/Posters/Exposition

16h30 **Jean-Jacques SNAPPE**, Ingredia, Arras

***Comportement des protéines dans les technologies alimentaires***

17h00 **Benoit CUDENNEC**, Institut Charles Viollette, IUT-A, Université de Lille et **Christophe FLAHAUT**, Institut Charles Viollette, Université d'Artois

***Devenir des protéines dans un système modèle de digestion simulée assisté par spectrométrie de masse***



---

## 17h45 Session Flash Posters

---

### Session 2

- 17h45 **Gautier DECOCK**, Eurofins, Courtaboeuf  
*Development of a Simple LC-HRMS-based Disulfide Mapping Assay Applied to Biopharmaceuticals*
- 17h50 **Nicolas MIGNARD**, Wyatt Technology France, Toulouse  
*High-throughput analysis of protein formulations by DLS: thermal stability, colloidal stability and a thermal anomaly in the colloidal stability parameter D1*

### Session 3

- 17h55 **Pascal DEGRAEVE**, Université Lyon 1 - laboratoire BioDyMIA, Bourg en Bresse  
*Influence du couple formulation-procédé d'élaboration de biomatériaux sur la stabilité du lysozyme et de la nisine*
- 18h00 **Tatiana ISABET**, Synchrotron SOLEIL, Gif sur Yvette  
*Le Synchrotron SOLEIL, accélérateur de recherche et d'innovation pour les sciences du vivant et les biotechnologies*

### Session 4

- 18h05 **Jos DE KEIJZER**, Freeslate, Sunnyvale  
*Automated Protein Formulation: From Formulation to Buffer Exchange, Stress Testing, and Analysis*
- 18h10 **Sébastien IGONET**, CALIXAR SAS, Lyon  
*Native and stabilized membrane proteins for drug discovery: CALIXAR approach*
- 18h15 **Karine PERON**, MERCK MILLIPORE, MOLSHEIM  
*Challenges and solutions to get high titer therapeutic protein formulations*
- 18h20 **Thomas PERRIER**, Carlina Technologies SAS, ANGERS  
*Peptidots : A new stabilization technology to solve protein formulation challenges*

### Session 5

- 18h25 **Didier CLENET**, Sanofi-Pasteur, Marcy l'étoile  
*Shelf-life prediction of products by using advanced kinetics and statistical analyses on forced degradation data*
- 18h30 **Gérard MEUNIER**, Formulaction, L'Union  
*Multiple light scattering to predict stability of emulsions with polymers / Microrheological analyses for dairy formulations*

---

## 18h35 Session Flash Stands : Innovations

---

- 18h35 **Guillaume FOURRIER**, Bio-Rad, Marnes la Coquette
- 18h40 **Flavie CHAPUT**, Eurofins, Courtaboeuf
- 18h45 **Patrick BONNEL**, HORIBA Medical, Montpellier
- 18h50 **Stéphane ROUQUETTE**, Malvern, Orsay
- 18h55 **Jérôme SABATHIER**, OCCHIO BIOTECH, Angleur
- 19h00 **Yasmine ZOUICHA**, Pall Life Sciences, Saint Germain en Laye
- 19h05 **Colas SWALUS**, Quality Assistance, Donstiennes
- 19h10 **Nicolas MIGNARD**, Wyatt Technology France, Toulouse

19H15 Cocktail/Posters/Exposition

## Jeudi 24 Septembre 2015

8H30 Accueil café

Modérateur : **Patrick COUVREUR**, Institut Galien CNRS/Paris-Sud, Châtenay-Malabry

**9h00** Conférence plénière, **Dario NERI**, Ecole polytechnique, Zurich (Suisse)  
**Armed antibodies and targeted cytotoxics for cancer therapy: from the bench to the clinic**

---

### **9h45** Session 3 – Suivi de stabilité des protéines et peptides par méthodes biophysiques et biologiques

---

Modérateur : **Jacques DUMAS**, Sanofi R&D, Vitry-sur-Seine

**9h45** **Samir SAFI**, Malvern, Orsay  
**New analytical technologies for streamlined biological drug design**

**10h15** **Maud LARREGOLA**, Platform PeptLab, Cergy Pontoise  
**Peptide stability and formulations**

**10h45** **Géry VAN VYNCHT**, Quality Assistance, R&D Department, Strategy & Innovation, Donstiennes (Belgique)  
**Stress testing and physico-chemical characterization of monoclonal antibodies : the approach of an analytical CRO**

11h05 - 11h35 Pause café/Posters/Exposition

**11h35** **Michel DESMADRIL**, Institut de biologie intégrative de la cellule (I2BC), Orsay  
**Application of microcalorimetry to the development of optimized therapeutic protein formulations**

**11h55** **Patrick BRON**, Centre de biologie structurale, Montpellier  
**Plateforme Intégrée de Biologie Structurale (PIBS), des outils pour comprendre l'organisation, la stabilité et la dynamique des protéines**

**12h15** **Gérald PERRET**, LFB Biotechnologies, Les Ulis  
**AntiComplementary Activity (ACA) assay : a relevant method to monitor human intravenous immunoglobulin (IVIG) stability**

12h35 - 14h30 Buffet/Posters/Exposition

---

### **14h30** Session 4 - Nouvelles technologies de formulation

---

Modérateur : **Patrick SANTAMBIEN**, LFB Biotechnologies, Les Ulis

**14h30** **Gilles PONCHEL**, Institut Galien CNRS/Paris-Sud, Châtenay-Malabry  
**Formulation strategies for improving delivery of proteins and peptides by mucosal routes**

**15h00** **Jean-Eudes VENDEVILLE**, Service Recherche et Développement, Innov'IA, La Rochelle  
**Spray drying and Formulation of Proteins and peptides**

**15h30** **Jean-Pascal ZAMBAUX**, Hydro-Fill SAS, Martillac  
**La Stabilité des protéines et l'amélioration de leurs biodisponibilités**

**16h00** **Frank BOURY**, INSERM 1066, Faculté de pharmacie, Angers  
**Protein Encapsulation using Pressurized CO2-based Processes: Challenges and Perspectives**

16h30 Pause café/Posters/Exposition

---

**17h00 Session 5 - Table ronde : Prédiction de stabilité approche plateforme, perspectives**

---

*Modérateurs : Sylvain HUILLE, Sanofi R&D, Vitry-sur-Seine, Sylvain PEYRACHE, Accinov, Lyon*

**Frédéric CAZALS**, INRIA

**Didier CLENET**, Sanofi Pasteur

**Denis CHÉREAU**, IMPROVE SAS, Dury

**Jean-Eudes VENDEVILLE**, Innov'IA, La Rochelle

**Nicolas MIGNARD**, Wyatt Technology France, Toulouse

**18h15 Conclusions**

**Danielle LANDO**, Adebiotech, Romainville



## Résumés des Conférences

### ***Anticipating aggregation propensity of proteins at early formulation development stage: how to support a data-based approach for immunogenicity risk assessment***

---

**Joël RICHARD** - IPSEN R&D, Dreux

*Joël Richard, PhD, Senior Vice President, Peptides - Ipsen, France*

The paradigm of protein formulation development has moved from the former *a posteriori* detection and control of aggregates to the anticipation/prediction of formulation, storage and processing conditions that will lead to aggregation, in a Quality by Design (QbD) approach. In order to anticipate potential aggregation issues, it is proposed to focus on the early steps of aggregation, which most of the time may involve higher order structure (HOS) alterations and loss of colloidal stability. Then, in the early formulation development stage, the combination of orthogonal methods like Zeta potential measurements, dynamic and static light scattering methods for investigation into colloidal stability and circular dichroism or fluorescence for investigation into HOS alterations makes it possible to detect aggregation propensity and elucidate aggregation mechanisms.

Finally, monitoring, identifying and characterizing sub visible particles in protein formulations are of paramount importance for patient safety assessment. This should be performed focusing on the micron-size domain through a combination of orthogonal methods including the powerful flow microscopy techniques. The key data obtained in this way about shape, morphology, size distribution, and chemical composition of the aggregates and particulates are then very helpful to develop data-based immunogenicity risk assessment.

### ***BioManufacturing, CMC aspects of the biotherapeutics and associated reagents***

---

**Jacques DUMAS** - Sanofi R&D, Vitry-sur-Seine

Stability can be a major challenge for the preclinical development of the biologics (proteins or peptides) that is about aggregation, degradation or diverse chemical modifications generating analytical profile product changes.

In every case, during the clinical lots production, instabilities can generate quality and safety issues which have to be minimized and managed.

The production process plays a major role because it defines the product, and consequently any modification of process leads potentially a change of product. The analytical techniques to be set up are complex all the more as the protein is complex. The stakes for BioManufacturing will be discussed towards the specificities of proteins, that it is about active principles or about protein tools necessary for the development. The notion of comparability is illustrated by means of some concrete examples.

## ***Stability of proteins in daily hospital practice: consequences for formulation***

---

**Alain ASTIER** - *Hôpital Henri Mondor, Créteil*

*Prof. Alain Astier. UPREC, Pole de pharmacie ; CHU Henri Mondor, 94010 Créteil.*

For hospital pharmacists, it is critical to have well-documented data about the stability of injectable drugs in practical situations: opened drug formulation, after reconstitution of a lyophilized product or after dilution in various vehicles. However, the manufacturer stability data after reconstitution or dilution were frequently quoted as “stable for 8 or 12 hours”, not for true reasons but only by the application of the “care principle” considering possible bacterial contamination or by the fact that stability tests were only conducted during a very short period.

This problem is of major importance for therapeutic proteins, mainly monoclonal antibodies (mAbs), which are very expensive drugs showing an explosive growth in all clinical fields, especially in oncology.

Hospital “in-use” situations include cold-chain rupture, need for advance preparations, re-use of vial residues, delayed administration, dose-banding or exposure to mechanical stresses.

Aggregation is a general response of proteins to mechanical and thermal stresses with the appearance of soluble or insoluble aggregates. Major implications are the induction of antibodies inducing loss of efficacy (neutralizing Abs) or apparition of toxicities due to immunogenic mechanisms. Physical instability of proteins is a non classical degradation of drugs which is mainly of chemical nature. This phenomenon is mainly underestimated, especially in practical situations.

During “in-use” situations, aggregation is mainly due to mechanical stress: shaking or stirring, during reconstitution and/or transportation; shearing (rapid sampling by syringe) or exposure to hydrophobic gas interfaces (bubbling, filtration, pneumatic transportation).

We present several studies demonstrating that extended stability data can be used for many mAbs, the vast majority of those being enough stable to thermal stresses to respond to most of the practical situations at hospital level.

Therefore, the manufacturer’s formulation should more take in account these practical situations by increased in-advance collaboration with practitioners which will finally handle the drug at hospital.

---

## ***Plant proteins : challenge for future***

**Denis CHÉREAU** - *IMPROVE SAS, Dury*

Given the increasing world population and the enrichment of a large portion of people in developing countries, access to food resources will become more and more challenging. Of the three macronutrients, the proteins are, much more than carbohydrates and lipids, representing a strategic element of our diet. The market prices trend over the last 15 years reinforces this analysis. In fact, prices of proteins rich products grow steadily while the prices of fats and carbohydrates are subject to sudden changes. World agricultural production of plant proteins is 550 Mt of which three quarters are consumed by animals to produce animal proteins. The ratio of transformation of plant proteins into animal proteins ranges from 2.4 up to 10 kg / kg, depending on the animal species. Of the 110 million tons of vegetable proteins consumed by humans every year, only 1.7 Mt are produced via a purification step to convert them into concentrates or isolates. This share will continue to expand in the coming years.

Plant proteins have an unsurpassed variety of physicochemical, functional biological properties and compositions. Proteins are molecules generating interactions between them or with other molecules due to their compositions, these properties can be problematic when attempting to stabilize and

store products, but it represents a large potential when we manage to master these interactions through processes for creating new structures with new functionalities.

Factors influencing the stability of proteins can be associated with:

- Proteins composition (amino acid composition, charges, presence of disulfide bonds, iso electric point, three-dimensional flexibility ...)
- Process parameters (temperature, pH, pressure, shear ...)
- Environment in which they operate (pH, ionic strength, concentration, nature of the ions present ...)
- Shelf life

Once these biopolymers assemblies have been mastered, they allow to obtain an infinite variation in texture and therefore properties. There is no specific regulatory restrictions except those related to the initial molecules. There is therefore a large number of possibilities for plant proteins to be investigated.

It is in this perspective that IMPROVE, an R&D center dedicated to vegetable proteins valorization, proposed to do contractual research for its customers, investing its teams and equipment's to better produce, extract, fractionate , purify, functionalize, stabilize and characterize plant proteins in food and nonfood applications.

---

### ***Etudier in situ l'agrégation de protéines : intérêts et limites des méthodes de diffusion de rayonnement***

---

**Christophe TRIBET** - *Ecole Normale Supérieure, Paris*

*C. Tribet, Ecole Normale Supérieure-PSL Research University, Département de Chimie, 24, rue Lhomond, 75005 Paris, France.*

La stabilité de protéines, telles que les anticorps ou leurs fragments, et notamment l'absence d'agrégats protéiques en solution est un enjeu majeur pour le développement et la sécurité d'usage de ces nouveaux médicaments. Rassembler des données expérimentales pertinentes sur l'origine d'une instabilité impose une caractérisation *in situ* des solutions : en effet, elle ne doit ni intervenir trop tardivement (eut égard à l'évolution complexe des amas de protéines), ni nécessiter un changement de la composition des échantillons du fait de leur sensibilité à de multiples conditions de stress chimique (pH, additifs, etc.) ou physique (échauffement, agitation, contact avec une interface).

Dans ce cadre contraint, les mesures par diffusion de rayonnement (lumière, RX en particulier) donnent des informations structurales et énergétiques. On peut avoir accès à la forme, et la dispersité des objets diffusants, et notamment détecter et caractériser des agrégats sans marquage. Une analyse des interactions entre protéines est aussi possible. Plusieurs exemples récents seront présentés pour illustrer l'usage de ces techniques sur le cas de solutions d'anticorps. Nous montrerons les avantages d'un suivi cinétique par diffusion de lumière durant les premiers instants après déstabilisation (en solution, ou au contact d'une interface), et les paramètres qu'il est possible de quantifier. Des mesures de diffusion RX aux petits angles permettront d'illustrer la mise en évidence d'une évolution conformationnelle d'IgG en solution, ou la présence combinée de forces attractives et répulsives entre protéines natives. Les difficultés pratiques de mise en œuvre, liées selon le cas à l'accès instrumental, ou à la robustesse des mesures vis à vis d'artefacts (bulles, poussières) seront discutées en comparaison d'approches alternatives de caractérisation.

## ***Conformational stability of proteins: understanding and predicting the 3D structure***

---

**Claudine MAYER** - Université Paris Diderot, Institut Pasteur, Paris

The stability of proteins is the ability of a protein to maintain its three-dimensional structure, its quaternary structure e.g. the number and arrangement of protein subunits in a macromolecular assembly, or the interaction with its partners in the case of a molecular complex. In general, the three-dimensional structure is directly related to function of the protein. With more than 110,000 proteins and protein complexes structures deposited within the *Protein Data Bank*, an international database containing all the structures of biological macromolecules determined worldwide, the current structural knowledge allows not only to better understand mechanistically the majority of biological systems, but also to predict the structure when there are no experimental structure available.

After a brief outline of the factors influencing protein structure stability, such as the sequence or the effect of the environment, we will review a number of tools and methods to predict protein structure and its related stability. We will notably present the different information that can be predicted using the sequence, such as prediction of the ordered/disordered regions and show how a 3D structure can be predicted using homology modeling, a method that produces high-quality structural models when the target and template are closely related. The last part will be dedicated to a short overview of what can be done nowadays concerning the *in silico* prediction of protein stability.

### ***Stabilité structurale et fonctionnelle des protéines en alimentation humaine: influence des procédés d'extractions, des conditions physico-chimiques et de l'inclusion dans des matrices alimentaires***

---

**Romain KAPEL** - Université de Lorraine, Nancy et **Marie-Hélène ROPERS** - INRA, Nantes

**Romain KAPEL<sup>(1)</sup> et Marie-Hélène ROPERS<sup>(2)</sup>**

<sup>(1)</sup> LRGP UMR CNRS-Université de Lorraine 7274

<sup>(2)</sup> INRA UR 1268 BIA, Nantes

Les protéines sont très largement utilisées dans l'industrie agro-alimentaire comme ingrédients de texturation en raison de leurs propriétés nutritionnelles mais aussi fonctionnelles (propriétés moussantes, foisonnantes, émulsifiantes, gélifiantes etc.). Elles sont, pour cela, extraites et/ou purifiées à partir d'agro-ressources. Ces propriétés résultent d'interactions complexes type protéines/phase aqueuse et/ou phase gazeuse et/ou phase lipidique permises par l'exposition de groupements chimiques portés par les chaînes latérales d'acides aminés. Elles sont donc conditionnées par la structure primaire des protéines mais aussi de leur état de structuration.

Or cet état de structuration est influencé par les conditions de pH, de température ou encore de force ionique. Il peut également être impacté par les procédés industriels d'extraction/purification ou impacter les procédés de transformation (tels que la protéolyse enzymatique). Par ailleurs, la stabilité et la fonctionnalité des protéines dans les matrices alimentaires sont modulées par des interactions protéines-protéines complexes. L'étude de la stabilité structurale des protéines et des interactions protéines/protéines constitue donc un élément clé de la maîtrise de la qualité et des performances des ingrédients protéiques.

La grande majorité des protéines utilisées pour la fabrication de produits alimentaires transformés dans les pays développés est d'origine animale. Or, les études prospectives montrent la nécessité d'utiliser des protéines issues de sources végétales car les coûts de production et l'impact environnemental sont plus faibles et la durabilité meilleure. Mais il existe actuellement peu d'études complètes de stabilité structurale, d'influence procédés/structure et d'interactions protéiques pour des protéines d'origines végétales. Cette conférence présente les résultats des deux laboratoires de



recherche en la matière obtenus avec des albumines de tourteau de colza qui présente un potentiel d'utilisation majeur en alimentation humaine.

### ***Comportement des protéines dans les technologies alimentaires***

---

**Jean-Jacques SNAPPE** - *Ingredia, Arras*

Milk proteins display a very large range of potentialities; in consequence ingredients made from these proteins express good opportunities in many applications in food, nutrition and health.

Milk proteins ingredients can be ranged in 2 categories: 1st got by concentration technologies of the proteins of milk or whey, and 2nd category modified proteins by physical and chemical means (hydrolysis, mineral modifications,...).

If we consider only the first category, 3 main types are predominant depending on technologies:

- Milk and cheese making: whey proteins
- Milk and membranes separation: total milk protein, micellar caseins, whey proteins (soluble milk proteins)
- Milk and casein manufacturing: acid caseins, rennet caseins, caseinates, whey proteins

These technologies plus the raw materials enable us to find a greater number of products than any succinct approach.

An example, in cheese manufacturing, the type of cheese (hard or soft cheese,...) will generate different whey proteins, but also the technology applied (temperature of pasteurization,...) will lead to different compositions in whey proteins and differences in tests.

More to consider is the effect of drying to get powders as the majority of proteins used as ingredients are in powder forms.

A lot of information is given on functionalities so naturally it is interesting to consider industrial products and ask if bibliography is directly applicable on proteins manufactured and commercialized at large quantities all over the world.

Sustainability becomes a key word so introducing vegetable proteins in food products makes sense. We consider pea protein isolate and an association of milk protein + pea protein isolate added in the milk proteins comparisons, the association must not be seen as a single assemblage but as a new functional ingredient.

Among functionalities measurable we are particularly concerned by pH stability, heat treatment stability, dispersibility, solubility, emulsion properties, gelification.

The results are teaching us that we must be careful about what the industrial protein ingredients functionalities could be, so never stop at considering the technical data sheet but test and validate in tests as extrapolable as possible into the final need.

## ***Devenir des protéines dans un système modèle de digestion simulée assistée par spectrométrie de masse***

---

**Benoît CU DENNEC** - Institut Charles Viollette, IUT-A, Université de Lille et **Christophe FLAHAUT** - Institut Charles Viollette, Université d'Artois

**Christophe FLAHAUT**<sup>1</sup>, Juliette CARON<sup>2</sup>, Dorothée DOMENGER<sup>2</sup>, Mostafa KOUACH<sup>3</sup>, Véronique TOUCHE<sup>4</sup>, Sophie LESTAVEL<sup>4</sup>, Jean-François GOOSSENS<sup>3</sup>, Pascal DHULSTER<sup>2</sup>, Rozenn RAVALLEC<sup>2</sup> et **Benoît CU DENNEC**<sup>2</sup>

Institut Charles VIOLLETTE

<sup>1</sup> Equipe QSA, Université d'Artois, Lens

<sup>2</sup> Equipe ProBioGEM, Université Lille1, Villeneuve d'Ascq

<sup>3</sup> CUMA, Faculté de Pharmacie, Lille et 4Inserm U1011, « Récepteurs nucléaires, maladies cardiovasculaires et diabète », Lille

La digestion des protéines a longtemps été considérée comme le processus permettant de générer les acides aminés essentiels au métabolisme sous une forme assimilable par l'organisme. Au-delà de cette fonction fondamentale, la digestion gastro-intestinale (GI) des protéines alimentaires génère, à travers des processus biochimiques et microbiens impliquant un grand nombre d'enzymes tout au long du tractus GI, une mixture complexe de peptides différant en termes de taille, de séquence et de modifications post-traductionnelles. Ces dernières années d'abondants travaux ont fait état de leur implication dans de nombreux phénomènes physiologiques. Les activités biologiques associées à ces peptides « bioactifs », initialement encryptés dans la protéine native, sont nombreuses et les plus documentées concernent les activités antimicrobienne, anti-hypertensive, anti-oxydante, immuno-modulatrice, opioïde, ou encore régulatrice de la prise alimentaire. L'activité de ces peptides, générés dans les différents compartiments du tractus GI au cours de la digestion, passe par la résistance et la stabilité, de leur séquence et de leur conformation, face aux conditions environnementales et aux nombreuses protéases auxquels ils sont confrontés avant d'atteindre leurs cibles. Dans ce contexte, la caractérisation exhaustive du « peptidome » est aujourd'hui un réel challenge et requiert à la fois de nombreuses techniques séparatives couplées à la spectrométrie de masse et de nouveaux outils pour l'analyse des quantités considérables de données obtenues.

Pour tenter de répondre à cette problématique, nous avons, grâce à la mise en place d'un système de digestion GI simulé *in vitro*, réalisé une cartographie des peptides générés au sein de l'estomac et de l'intestin à partir de l'hémoglobine bovine. Cette cartographie comporte plus de 700 peptides uniques résistants aux conditions GI. Nous montrons également comment certaines de ces séquences peuvent être impliquées dans la régulation du métabolisme énergétique et capable de traverser la barrière intestinale, simulée *in vitro* par une monocouche de cellules intestinales (Caco-2). Ce travail contribue à montrer que la « peptidofoodomics » est une source d'information considérable et prometteuse pour l'étude de la digestion des protéines et de leur potentiel pour la préservation de la santé humaine.

*Ces travaux ont été financés avec l'aide du Conseil Régional du Nord Pas de Calais.*

---

## ***Armed antibodies and targeted cytotoxics for cancer therapy: from the bench to the clinic***

**Dario NERI** - Ecole polytechnique, Zurich (Suisse)

**Dario Neri**, Department of Chemistry and Applied Biosciences, Swiss Federal Institute of Technology (ETH Zürich, Vladimir-Prelog-Weg 4, CH-8093 Zürich (Switzerland))

Antibodies can be used to deliver bioactive molecules (drugs, cytokines, photosensitizers, radionuclides, etc.) to the tumor environment, thus sparing normal tissues. The antibody-based targeting of certain modified extracellular matrix (e.g. splice isoforms of fibronectin and of tenascin-C) is particularly attractive, as these antigens represent accessible, abundant and selective tumor-associated antigens [Refs. 1-5].

We have recently explored the development of linkerless strategies for the coupling of potent

cytotoxic drugs to tumor-targeting antibodies [Refs. 6,7]. Furthermore, we have compared the performance of antibodies and of small organic ligands (e.g., those isolated from large DNA-encoded chemical libraries) [Refs. 8-12], as vehicles for pharmacodelivery applications.

References:

- 1) Neri, D. & Bicknell, R.. *Nature Rev. Cancer*. 2005, 5, 436-446
- 2) Neri, D. & Supuran, C. *Nature Rev. Drug Discov.*, 2011, 10, 767-777
- 3) Neri, D. & Pasche N. *Drug Discov. Today*, 2012, 17, 583-590
- 4) Gutbrodt, K. et al. *Science Transl. Med.*, 2013, 5, 201ra118
- 5) Hemmerle, T. et al. *Br. J. Cancer*, 2013, 109, 1206-1213
- 6) Bernardes, G. et al. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 2012, 51, 941-944
- 7) Perrino, E. et al. *Cancer Res.*, 2014, 74, 2569-2578
- 8) Krall, N. et al., *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 2013, 52, 1384-1402
- 9) Krall, N. et al., *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 2014, 53, 4231-4235
- 10) Franzini, R. et al., *Acc. Chem. Res.*, 2014, 47, 1247-1255
- 11) Wichert, M. et al., *Nature Chemistry*, 2015, 7, 241-249
- 12) Franzini, R. et al., *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 2015, 54, 3927-3931

---

### ***New analytical technologies for streamlined biological drug design***

---

**Samir SAFI - Malvern, Orsay**

*Samir Safi, Stephane Rouquette, Jeff Hall.*

*Biosciences Development Initiative, Malvern Scientific, Parc club université, 30 rue Jean Rostand Orsay 91400*

Once a potential therapeutic biologic has been Identified, the process of developing the therapeutic continues through costly, complex and increasingly demanding phases. Candidates and formulations that fail to satisfy the predetermined criteria are removed from the main product pipeline and placed in the support pipeline area. More in-depth analytical data is needed to understand the reason for such failures. Based upon this data, failure predictive analytical assays are developed to ensure the most relevant tests are introduced to decrease drug development cost. Such innovative analytical approaches are also of great interest in the growing Biosimilar market where Biosimilar/Innovator products undergo side by side extensive testing.

In this context, Malvern has established in 2012's a Biosciences Development Initiative (BDI), partnering with industry and academia to rapidly identify and assess analytical problems and deliver innovative solutions.

In the course of this talk several of these technologies related to particle size, viscosity and structural integrity will be presented:

- The Viscosizer TD: Small volume both viscosity and size screening method compatible with complex media using Taylor dispersion.
- The HELIX a hyphenated DLS-Raman system that provides insight into stability at the microscopic structural level and develops mechanistic understanding of protein aggregation.
- The Archimedes based on Resonant Mass Measurement (RMM) provides weight, count and particles size in the size range of 50 nm to 5 µm, these are important characteristics for detecting immunogenic adverse effect.

**Maud LARREGOLA** - Platform PeptLab, Cergy Pontoise

**Maud Larregola** and Anna Maria Papini  
PeptLab@UCP Platform and Laboratory of Chemical Biology  
University of Cergy-Pontoise (France)  
www.peptlab.eu

In the last decade the pharmaceutical industries are demonstrating an increased interest in peptide-based drugs. Although more and more efficient strategies have been developed to produce active pharmaceutical ingredients of peptide-based drugs, many issues remain challenging. Metabolic stability and bioavailability *in primis*, but also formulation development are among the most important ones.

Side chain-to-side chain cyclizations represent a relevant strategy for enrichment of bioactive conformational ensembles. In fact structural rigidification reduces entropy and may lock molecules into receptor binding conformations. Structural manipulation contributing to enhanced target specificity, higher binding affinity and biological potency, can lead very often to lower metabolic susceptibility and more favorable pharmacokinetics. The CuI-catalyzed azide-alkyne 1,3-dipolar Huisgen's cycloaddition provides a convenient and versatile access to cyclic peptidomimetics. In fact by conformational and biological studies we confirmed that [1,2,3]triazolyl-mediated i-to-i+4 side chain-to-side chain cyclization offers a powerful approach for generating stable helix mimetic structures. Moreover, i-to-i+5 side chain-to-side chain 1,4-disubstituted [1,2,3]triazolyl-bridge can stabilize  $\beta$ -turn conformations generating heterodetic cyclopeptides with enhanced *in vitro* potency and improved receptor subtype selectivity. Stabilization of  $\beta$ -turn structures can be also obtained by a 1,3-butadiyne constraint via the Glaser-Elington oxidative coupling.

It is evident that following these approaches we can manipulate peptide secondary structures to adopt bioactive protein conformation mimics. However while peptide smaller size makes them easier to deliver across biological barriers than larger proteins their formulation can be problematic. Several excipients, i.e., alkylsaccharides, have been tested as potential enhancers of transmucosal absorption in the hope that alternate non-invasive means of administering peptides and proteins might be achieved. Aggregation is a principal cause of unwanted immunogenicity of peptide therapeutics: a significant and growing concern of the FDA. Therefore possible formulation approaches will be discussed.

References :

- [1] A. Le Chevalier Isaad et al. J. Pept. Sci. 2009, 15, 451-454
- [2] A. Le Chevalier Isaad et al. Eur.J. Org. Chem 2008, 31, 5308-5314.
- [3] S. Cantel et al. J.Org.Chem. 2008, 73, 5663-5674.
- [4] M. Scrima et al. Eur. J. Org. Chem 2010, 446-457.
- [5] M. Scrima et al. Eur. J. Org. Chem 2010, 446-457.
- [6] C. Testa et al. J. Med. Chem. 2014, 57, 9424-9434.
- [7] N. Auberger et al. Bioorg.Med.Chem. 2014, 22(24), 6924-32.
- [8] F. Real-Fernandez et al. Biopolymers 2015 May 13. doi: 10.1002/bip.22677

---

***Stress testing and physico-chemical characterization of monoclonal antibodies :  
the approach of an analytical CRO***

---

**Géry VAN VYNCHT** - Quality Assistance, R&D Department, Strategy & Innovation, Donstiennes  
(Belgique)

Accelerated stress studies of biotech products can be carried out to study the main degradation pathways of the recombinant proteins to evaluate their stability, or to identify the different peaks / entities observed while running stability indicating separative methods such as ion exchange or size exclusion chromatography.

As an example, we will describe our generic approach for such studies on monoclonal antibodies after oxidative stress and deamidation, using state-of-the-art analytics.

After efficient IEX-HPLC method development (using the Auto-Blend Plus technology from Waters), the different isoforms and degradation products observed can be studied first by 2D-UPLC/MS on the intact protein.

Then, middle-up information can be obtained very rapidly on sub-units after enzymatic digestion (with IdeS / Fabricator) followed by RP-HPLC/MS analysis.

Finally, peptide mapping by RP-UPLC/MSE can be run after trypsin digestion to obtain structural information at the peptide / amino acid level (to check, for example, if degradation occurs on CDRs).

The performances and limitations of the different analytical approaches will be discussed.

### ***Application of microcalorimetry to the development of optimized therapeutic protein formulations***

---

**Michel DESMADRIL** - *Institut de biologie intégrative de la cellule (I2BC), Orsay*

Biotechnologically developed medicines and vaccines offered millions of people new hope to cure their often life threatening diseases. More than 100 registered biopharmaceutical medications are already used in treating serious indications including, for example, cancer, hepatitis and rheumatoid arthritis. More than 30 years ago the first recombinant peptide hormone was successfully produced, followed by many success stories including recombinant human insulin which was in 1982 the first approved genetically engineered biopharmaceutical. The process developed very fast and nowadays the number of biopharmaceuticals under development is extremely magnified to about 1000 biotechnological medicines today.

Therefore, the need to develop clear and reliable strategies in stabilizing proteins became mandatory and one of the great challenges is to prevent denaturation processes including protein unfolding and aggregation during the time of shelf life. However, the prediction of the overall protein stability is not trivial and therefore real time stability studies are conducted, which are very costly and time consuming. Due to the complex formation mechanisms and structure of protein degradation products it is quite hard to characterize and furthermore to quantify such species accurately with a single analytical method. In fact, many analytical techniques have to be involved to get reliable decisions. Moreover, predictive strategies are still not well evaluated with respect to real long term stability of proteins. For successful prediction of protein long term stability the selected analytical method(s) should be able to predict the rates of main protein degradation processes.

Calorimetry in protein formulation development incorporates two main techniques, Differential scanning calorimetry (DSC) and Isothermal titration calorimetry (ITC). ITC allows thermodynamic characterization of binding processes including protein-protein and protein-ligand bindings, while DSC allows thermodynamic characterization of protein stability. Nowadays both techniques are essential in protein formulation laboratories and the use of DSC in protein formulation development is mainly to predict the rank order of different potential formulations having the advantage of being able to achieve that without any need to apply extra stress protocols.

We give some examples how such technologies can improve the development of optimized therapeutic protein formulations.

***Plateforme Intégrée de Biologie Structurale (PIBS),  
des outils pour comprendre l'organisation, la stabilité et la dynamique des protéines***

---

**Patrick BRON** - Centre de biologie structurale, Montpellier

*Patrick BRON, Directeur de l'équipe « Biologie Structurale Multi-échelles », Responsable de la Plateforme intégrée de Biologie Structurale Centre de Biochimie Structurale, INSERM U1054 / CNRS UMR5048, Montpellier*

Le Centre de Biochimie Structurale (CBS) est un laboratoire qui a été créé en 1992 à Montpellier dans un contexte de renforcement de la biologie structurale, plus particulièrement en province. Initialement centré sur la cristallographie des rayons X, la RMN et la bioinformatique, le CBS a étendu ses compétences dans le domaine de la microscopie électronique et de la biophysique (microscopie à force atomique, microscopies de fluorescence avancées et nanomanipulation). Une des forces du CBS est d'avoir su rassembler sur un même site des compétences variées, mais complémentaires, pour étudier des fonctions biologiques clés. Faisant partie dès 2001 de la Génopôle Languedoc Roussillon en tant que Plateforme de Biologie Structurale axé sur les récepteurs nucléaires en collaboration avec la Plateforme de Strasbourg, le CBS a été labellisé Plateforme RIO de Biologie Structurale en 2003 et Plateforme IBISA en 2007. Depuis 2009, les différentes techniques proposées par le CBS sont regroupées sous la Plateforme de Biologie Structurale Intégrée (PIBS) qui fait partie de l'unité mixte de service Biocampus, donc accessible aux laboratoires publiques et privées. Le CBS est maintenant hébergé dans un bâtiment INSERM au 29, rue de Navacelles, Montpellier. Il est organisé en 2 départements depuis 2014, Biologie Structurale et Biophysique de la Molécule Unique. Centre interdisciplinaire, le CBS possède des affiliations multiples: INSERM, CNRS (INSB), Université de Montpellier. Dans le cadre de cette présentation, les différentes techniques permettant de comprendre l'organisation, la stabilité et la dynamique des protéines proposées au CBS (RMN, cristallographie aux rayons X, Microscopie électronique, AFM) seront présentées, en détaillant principalement ce que ces techniques peuvent apporter comme type d'information. Les contraintes techniques associées à ces approches seront présentées ainsi que les implications au niveau de la préparation des échantillons.

***AntiComplementary Activity (ACA) assay :  
a relevant method to monitor human intravenous immunoglobulin (IVIG) stability***

---

**Gérald PERRET** - LFB Biotechnologies, Les Ulis

Anticomplementary activity (ACA) is a non-desired property of IVIG preparations related to the capacity in activating complement pathway out of any suitable immunological purposes. In former days, high ACA was linked to minor and serious adverse reactions in patients, like headache, fever, chills, and anaphylactic reactions. This property is thought to be mainly a consequence of residual Ig aggregates formed during not well controlled process manufacturing or resulting of product instability. To monitor the ACA, the European Pharmacopoeia (EP) recommends using the Kabat and Meyer classical complement consumption method. This complex and time consuming method is already quite variable within a laboratory but much more inter laboratories as a result of the specific biological reagent used and the possible different interpretations of the modus operandi. Furthermore the physiological relevance due to animal reagents used (rabbit, sheep and guinea-pig) is questionable as well as the acceptance criteria (no more than 50% of consumption). We propose here an alternative approach to measure the ACA based on the C5a anaphylatoxin release in human serum. As previously described, we confirmed that aggregates formed by heating IVIG preparations at acidic pH activate complement poorly, while aggregates formed by heating IVIG at neutral pH show high ACA. This was shown with very good correlation for both complement activating methods (i.e. EP-ACA and C5a). These observations support the fact that precautions should be taken to adjust an IVIG sample at neutral pH. This has to be performed in a physiological environment as close as

possible of in vivo conditions. Interestingly, it was shown that spiking of activating aggregates at a low level (less than 0.02%) conducted to a clear ACA increase detectable by all complement activation assessment methods with a higher sensitivity for C5a release. Such aggregates levels were undetectable by classical physicochemical methods like SEC-HPLC or silver nitrate staining SDS PAGE. In the same study, the dimer related ACA was shown to be far less important than the one related to higher size aggregates. In conclusion the interest of ACA monitoring for batch release and stability studies was clearly confirmed and for this purpose C5a release method is a promising alternative. In addition the formation of powerful complement activating species at neutral pH supports the relevance of acidic formulation for IgIV.

## ***Formulation strategies for improving delivery of proteins and peptides by mucosal routes***

---

**Gilles PONCHEL** - *Institut Galien CNRS/Paris-Sud, Châtenay-Malabry*

*"Amélioration du Passage des Barrières par les Molécules Actives"*  
*Institut Galien Paris-Sud, UMR CNRS 8612*  
*Université Paris-Sud*

Therapeutic peptides and proteins are highly potent and specific drugs compared to many conventional small molecules, which explains their breakthrough in terms of number of clinically approved products. In order to keep under control stability problems, including aggregation propensity, poor diffusibility in tissues, enzymatic susceptibility and high costs, these APIs are almost all presented as parenteral formulations despite possible microbial contamination issues inherent to this route. From the formulator point of view, the choice of an optimal route of delivery is often a critical factor during drug development since in any cases it governs not only pharmacokinetics and therapeutic efficacy, industrial efficiency, but also in some cases practitioner prescription propensity and patient compliance to the treatment. Therefore, many reasons prompts pharmaceutical scientists to foresee the use of alternative mucosal routes of delivery.

As always for any API, attaining an optimal formulation necessitates an in depth knowledge of its physico-chemical and biological properties. In fact, a deeper insight to peptides and proteins characteristics shows that the problems to be solved can be quite different. For example, small peptides are generally water soluble and moderately aggregate, while controlling aggregation of large proteins such MABs can be a challenge. Pharmacokinetics (ADME) properties also can be really different as shown by the unexpected but key role of FcRn (neonatal Fc receptor) in protecting and extending the half-lives of some proteins as MABs by prompting direct interactions with them *in vivo*.

Looking for safe and efficient alternatives to parenteral delivery of peptides and proteins is the subject of considerable efforts but with only few examples of successful achievements for some peptides. The example of the nasal route shows that non parenteral delivery of peptides such as oxytocin, calcitonin, desmopressin, buserelin, etc is clinically feasible. However, not surprisingly and because it raises formidable barriers, the oral route represents certainly the "Holy Grail" for peptides and proteins. Whatever, more and more efficient multifunctionalized and sophisticated carriers are available nowadays thanks to nanotechnologies developments. Combined to a (qualitatively and quantitatively) precise understanding of the problems to be solved it has helped to prompt clinical trials for few oral formulations e.g. for cyclosporin, insulin, octreotide oral delivery. Indeed, there is still much work to be done to provide clinically acceptable formulations, but thirty years earlier who would have bet a penny on the possibility of achieving effective oral delivery of insulin, even if some issues remain to be solved with this molecule? This example teaches us patience while maintaining our hope of achieving effective formulations in the future.

**Jean-Eudes VENDEVILLE** - *Service Recherche et Développement, Innov'IA, La Rochelle*

Protein or peptides as ingredients or active products often need powder form. The spray drying of these products as well as the shaping of particle or galenic of the powders is of great importance to maintain the properties for stability or use.

The development of food supplements or pharmaceutical, leads more and more towards preserving the quality of the proteins or peptides, their activity, and new needs to protect the molecules and release them on the right place have appeared.

Spray Drying technologies and encapsulation techniques allow new possibilities in protection, control release and development of news functionalities through powder design.

Through an updating of the spray drying technologies and encapsulation techniques, protection or encapsulation and control release is reviewed with a special focus on protein and peptides.

---

### ***La Stabilité des protéines et l'amélioration de leurs biodisponibilités***

---

**Jean-Pascal ZAMBAUX** - *Hydro-Fill SAS, Martillac*

*Président : Hydro-fill SAS  
jpz@hydro-fill.com*

Depuis de nombreuses années les protéines et autres composés issus des biotechnologies ne sont pas stables dans leurs formes Galéniques souvent à cause de leur base hydrophobe. Elles sont systématiquement lyophilisées pour les conserver jusqu'au patient.

Ces techniques ont de nombreux inconvénients :

- Chère
- Limite la taille des lots
- Dégradation et perte de l'actif
- Difficile à gérer pour un médicament « d'urgence »

Des technologies sont nées pour encapsuler ces protéines et les protéger jusqu'à leur site actif.

Mais la gestion de ces « Micelles » est difficile à gérer et la molécule reste masquée d'où des dosages importants pour une même efficacité.

Hydro-fill a développé et breveté une technologie capable de façon ciblée de protéger une molécule en venant, de façon ciblée, « masquer les pôles hydrophobes » en venant fixer via des liaisons non-covalentes des conjugués spécifiques. Ces connections rendent la molécule hydrophile sans masquer son ou ses sites actifs.

Nous présenterons un cas concret.



## ***Protein Encapsulation using Pressurized CO<sub>2</sub>-based Processes: Challenges and Perspectives***

**Frank BOURY** - INSERM 1066, Faculté de pharmacie, Angers

Amin Swed<sup>a</sup>, Thomas Cordonnier<sup>a</sup>, My Kien Tran<sup>a</sup>, Leila Hassani<sup>b</sup>, Jérôme Guicheux<sup>b</sup>, Pierre Weiss<sup>b</sup>, **Frank Boury**<sup>a</sup>

<sup>a</sup> INSERM, University of Angers, U1066, Micro-Nanomédecines Biomimétiques (MINT), 4 rue Larrey, 49933 Angers Cedex 9, France.

<sup>b</sup> INSERM, University of Nantes, U791, Laboratory for Osteo-Articular and Dental Tissue Engineering (LIOAD), Faculty of Dental Surgery, 1 Place Alexis Ricordeau, BP 84215, 44042 Nantes, France.

\* Corresponding author: Frank Boury (e-mail: frank.boury@univ-angers.fr; Tel: +33 2 44 68 85 28; Fax: +33 2 44 68 85 46).

We present here innovative methods to encapsulate proteins into PLGA microparticles/nanoparticles or spherical nanostructured highly porous CaCO<sub>3</sub> microparticles using emulsification/extraction process in CO<sub>2</sub> medium under mild conditions of pressure and temperature.

CaCO<sub>3</sub> particles can be obtained by different methods including solution route, evaporation-diffusion route and finally carbonation route via compressed and supercritical CO<sub>2</sub>. The process employing supercritical CO<sub>2</sub> appears to be an efficient method for CaCO<sub>3</sub> precipitation and can be used to synthesize hybrid organic-inorganic biomaterials with well-defined properties. In the case of polymeric particles, only non-toxic solvents, dimethyl isosorbide ether (DMI) and glycofurol (GF) were employed to precipitate the protein and to dissolve the polymer. For both systems, good encapsulation efficiency was obtained with preserved bioactivity of the model protein. The microparticles were characterized in terms of size and zeta potential. In addition, the morphology and surface properties were determined using scanning electron microscopy (SEM) and atomic force microscopy (AFM) respectively. *In vitro* release study of the protein from microparticles was presented to assess the capacity of these systems to control the protein release. Moreover, cytotoxicity study was performed and showed an excellent cytocompatibility of the obtained microparticles. Thus, we described an effective and original process for TGF- $\beta$ 1 encapsulation into PLGA microparticles. The obtained carriers could be used in many biomedical applications and were more specifically developed for cartilage regeneration combined with hydrogels.

Preparation of polymeric particles in CO<sub>2</sub> medium using non-toxic solvents: discussions on the mechanism of particle formation: Tran, My-Kien; Swed, Amin et al., JOURNAL OF MATERIALS CHEMISTRY B Volume: 3 Issue: 8 Pages: 1573-1582 Published: 2015

Lysozyme encapsulation within PLGA and CaCO<sub>3</sub> microparticles using supercritical CO<sub>2</sub> medium (vol 79, pg 159, 2013) Tran, M. -K.; Hassani, L. N. et al, JOURNAL OF SUPERCRITICAL FLUIDS Volume: 88 Pages: 142-142 Published: APR 2014

« Protein Encapsulation into PLGA Nanoparticles by a Novel Phase Separation Method Using Non-Toxic Solvents ». Swed A., Cordonnier T., Fleury F., Boury F JOURNAL OF NANOMEDICINE & NANOTECHNOLOGY. 2014. Vol. 05, n°06, p. 1-8.

Lysozyme encapsulation into nanostructured CaCO<sub>3</sub> microparticles using a supercritical CO<sub>2</sub> process and comparison with the normal route

By: Hassani, Leila N.; Hindre, Francois; Beuvier, Thomas; et al. JOURNAL OF MATERIALS CHEMISTRY B Volume: 1 Issue: 32 Pages: 4011-4019 Published: 2013

Synthesis of hollow vaterite CaCO<sub>3</sub> microspheres in supercritical carbon dioxide medium , Beuvier, Thomas; Calvignac, Brice; Delcroix, Gaetan Jean-Robert; et al. JOURNAL OF MATERIALS CHEMISTRY Volume: 21 Issue: 26 Pages: 9757-9761 Published: 2011



#### **Aggregation of Antibody-Drug Conjugates: The Light Scattering Toolbox for Screening and Characterization**

**Nicolas MIGNARD** - *Wyatt Technology France*

Antibody-Drug Conjugates (ADCs) show much promise as effective therapeutics for cancer and other diseases. However, they often exhibit an increased aggregation propensity compared to their unmodified counterparts due to non-specific interactions arising from attached drug and linker moieties. Light scattering offers multiple techniques for addressing the challenges of formulation screening, and characterizing both aggregates and propensity for aggregation. We present these tools in the context of ADCs and the dependence of aggregation profiles on linker chemistry.

#### **High-throughput analysis of protein formulations by DLS: thermal stability, colloidal stability and a thermal anomaly in the colloidal stability parameter D1**

**Nicolas MIGNARD** - *Wyatt Technology France*

High-Throughput Screening by Dynamic Light Scattering (HTS-DLS) is a versatile tool for characterizing various aspects of protein stability in parallel:

- Thermal / conformational stability (TM, Tonset)
- Colloidal stability (D1 or kD)\*
- Actual aggregation state

A novel analysis presented here indicates that D1 undergoes dramatic modulation around the thermal transitions.

Changes to the value of D1 are readily observable several degrees earlier than TM or Tonset. We speculate as to the nature of the molecular changes leading to this effect.

\*we prefer 'D1' to 'kD' in order to avoid confusion with other 'K-D' meanings and to open a pathway to higher-order terms.

## Fast insulin amyloid aggregation at the air-liquid-solid triple interface

Thibaut FRACHON - LMGP

Thibaut Frachon<sup>(1),(2)</sup>, Marianne Weidenhaupt<sup>(1)</sup>, Quentin Le Masne<sup>(2)</sup>, Franz Bruckert<sup>(1)</sup>

<sup>(1)</sup> LMGP - Grenoble INP – Minatec, 3 parvis Louis Néel - CS 50257 - 38016 Grenoble cedex 1

<sup>(2)</sup> Eveon SAS, 345, rue Lavoisier – Inovalée, F38330 Montbonnot Saint-Martin France

With the growing use of therapeutical proteins and the development of medical delivery devices, protein stability becomes a major concern in pharmaceutical industrial processes (production, storage, injection...). In these processes, proteins can lose their native conformation by unfolding and reach a new free energy minimum by forming insoluble aggregates. Insulin is one example of such an aggregation-prone protein, which easily forms amyloid fibrils on hydrophobic surfaces under agitation. Within a device containing a protein solution, hydrophobic interfaces are found at the border between hydrophobic materials and liquid and between air and liquid. These different interfaces come into close proximity in protocols, frequently used in industry, involving intermittent wetting: in this case, a protein solution-air interface moves along the materials surface coated with adsorbed proteins. When the liquid recedes, the interface leaves a thin liquid film and/or small droplets, hydrating the adsorbed proteins.

We designed a model experiment, where we observe by optical microscopy the formation of insulin amyloid fibers as a protein solution moves repetitively back and forth in a microfluidic channel. Thioflavin T fluorescence was used to monitor the formation of amyloid deposits and reflection interference contrast microscopy was used to monitor the morphology of the liquid film after receding. The growth of protein aggregates on the surface was characterized. We demonstrate that insulin fibers mainly form in regions of intermittent wetting, but not in regions exposed to hydrodynamic shear stress alone, remaining always wet. This clarifies the role of interfaces in insulin aggregation, showing that wall shear stress alone is insufficient to rapidly trigger amyloid fiber formation. We study the influence of temperature, channel size, fluid velocity, duration of the recession phases and nature of the materials surfaces. Our experiments illustrate how the formation of a triple solid/liquid/air interface in industrial processes may lead to protein instability. The careful design of fluid movement in devices handling protein solutions can therefore improve their stability.

## Peptides forming beta-sheets on hydrophobic surfaces cooperatively promote insulin amyloid aggregation

Karim CHOUCANE - LMGP

Chouchane\* Karim, Amari\* Myriam, Weidenhaupt\* Marianne, Bruckert\* Franz, Vendrely\* Charlotte

\* Laboratoire des Matériaux et du Génie Physique, Grenoble INP - Minatec, 3 parvis Louis Néel - CS 50257 - 38016 Grenoble cedex 1

Protein stability and aggregation is a concerning issue for pharmaceutical industry. Insulin is one of the 20 human proteins known to form amyloid fibrils. For insulin, this kind of aggregation in physiological condition is dependent upon surface adsorption. In particular hydrophobic and charged material surfaces to which insulin is exposed during its dissolution, formulation and storage can

trigger amyloid fibril formation via the appearance of surface localized aggregation nuclei. The typical kinetic of such aggregation is divided in 3 steps the lag phase (nucleation phase), the growth phase (fast aggregation phase) and a plateau (end of aggregation phase). We study the mechanism of this, in vitro, surface dependent aggregation and the role of small adsorbed peptides as mediator (enhancers or inhibitor) of aggregation. In particular we have shown that the peptides adopting a beta sheet structure over hydrophobic surface are able to enhance this aggregation in a cooperative manner. The cooperativity observed is likely the result of small peptide patch formation over the surface. These peptides patches stabilize insulin adsorption as well as their own therefore enhancing the formation of nuclei and reducing the lag time. These results as well as our approach developed at the LMGP, may lead to a better understanding of the formation of amyloid aggregate implied in numerous neurodegenerative diseases. Furthermore this work can have direct application in developing new ways of preventing therapeutic protein from aggregation in vitro.

POSTER #15 - SESSION 2

---

## Microrheological analyses for dairy formulations

**Gérard MEUNIER** - *Formulation*

RAMSCH Roland, BRAMBILLA Giovanni, FLEURY Mathias, BRU Pascal, **MEUNIER Gérard**

This work presents studies on yoghurt preparation using microrheology. Passive microrheology studies the mobility and displacement of micron sized particles which results from Brownian motion [1]. The motion of particles induces local deformations of the sample, which are directly related to its viscoelastic properties.

Our technique is based on Multi Speckle Diffusing Wave Spectroscopy (MS-DWS), which consists of Dynamic Light Scattering (DLS) extended to an opaque media. With a patented algorithm, the backscattered interfering light can be analysed in terms of Mean Square Displacement (MSD), which is directly related to the viscoelastic properties of a sample. Moreover, the optical method allows to study especially weak gels without any applied shear, which avoids perturbation of the sample.

Nowadays, yogurt formation has caught much attention, as it is a growing market. The choice of proteins and other components are very important. This work shows how passive microrheology can be used to follow up yoghurt preparation and the influence of proteins type and content on the gelation time, and the viscoelastic properties of the yogurt. Gel time was determined by a new rescaling method, namely Time-Cure Superposition (TCS) [2,3]. This data processing determines the gel point according to the Winter-Chambon criterion [4].

[1] D. A. Weitz, D. J. Pine, in: Dynamic Light Scattering, W. Brown (Ed.) (Oxford Univ. Press, New York, 1993), Chap. 16

[2] T. H. Larsen, E. M. Furst, Phys. Rev. Letters, 2008, 100, 14600

[3] K. M. Schultz, E. M. Furst, Soft Matter, 2012, 8, 6198

[4] H. H. Winter, F. Chambon, J. Rheology 1986, 30, 364-382

## Development of a Simple LC-HRMS-based Disulfide Mapping Assay Applied to Biopharmaceuticals

**Gautier DECOCK** - *Eurofins*

**Purpose:** To develop a simple 3-step reaction LC-HRMS-based disulfide mapping method for common biopharmaceuticals.

**Methods:** Controlled reduction, cyanylation, and cleavage of cyanylated cysteine residues involved in disulfide linkages monitored by UPLC/ESI-LTQ-Orbitrap MS.

**Results:** The method was able to produce and identify all distinguishable modified peptides of the native structure of Recombinant Human Insulin (rH Insulin). The method was also able to detect unique peptides representative of two possible scrambled products of rH Insulin.

## Safety of Biopharmaceutical Products - Analysis of BioProcess Impurities

**Gautier DECOCK** - *Eurofins*

Due to the complexity of biopharmaceutical products, vast arrays of methods are utilized to fully characterize these complex molecules and their impurities - a significantly more difficult task than for typical small molecules. Some impurities are related to the drug product, while others are introduced during bioprocessing. Leachables are compounds that leach into the drug product formulation from disposables utilized in bioprocessing; whereas, residuals are introduced during bioprocessing. It is imperative that processes are validated to demonstrate clearance of these impurities and ensure product safety. Mass spectrometry plays a key role in providing data to understand, develop, and validate the process. This poster will cover experiences and capabilities supporting the safety testing of biopharmaceuticals.

## Cell penetrating and interfering peptide (CP&IP) as a new therapeutic approach in oncology

**Angelita REBOLLO GARCIA** - *Inserm*

*Issam Arrouss<sup>1</sup>, Jesús Fominaya<sup>1</sup>, Jerónimo Bravo<sup>2</sup>, Fernando Roncal<sup>3</sup>, Marie Wislez<sup>4</sup>, Karim Dorgham<sup>1</sup>, David Vallerand<sup>5</sup>, Nathalie Rabbe<sup>4</sup>, Narjesse Karboul<sup>5</sup>, Françoise Carlott<sup>6</sup>, Didier Decaudin<sup>5,7</sup>, Sylvain Choquet<sup>8</sup>, Nabih Azar<sup>8</sup>, Christophe Parizot<sup>9</sup>, Jean Marc Zini<sup>10</sup>, Jean Yves Brossa<sup>1</sup>, Dominique Mazier<sup>1</sup>, Fariba Nemat<sup>5</sup>, and Angelita Rebollo<sup>1</sup>*

The interaction between intracellular proteins caspase-9 and PP2A is critical to apoptosis. We designed DPT-C9h, a Cell Penetrating Peptide, which specifically disrupts the interaction between caspase-9 and PP2A. We evaluated its therapeutic potential in vitro and in vivo.

DPT-C9h induced caspase-9-dependent apoptosis in cancer cell lines, and significant tumor growth inhibition (TGI) in patient-derived xenograft (PDX) models of breast (3-neg breast and hormone-positive HER2-negative breast adenocarcinoma), ovary and lung cancers and uveal melanoma. DPT-C9h also induced apoptosis in primary tumor B cells isolated from chronic lymphocytic leukemia (CLL) patients, but not on B cells obtained from healthy donors (HD). Moreover, in both CLL patients and HD, DPT-C9h did not induce apoptosis on T- and NK-cells and monocytes. Finally, neither toxicity nor immunogenic responses were observed. These results strongly suggest that DPT-C9h has a tumor-specific activity and that caspase-9/PP2A interaction constitutes a novel therapeutic approach for the treatment in cancer patients.

Before starting preclinical studies, we also analyzed the stability in serum and the pharmacokinetic parameters in mice of DPT-C9h, and performed modifications in order to optimize its in vivo stability. Point mutations on a protease cleavage site clearly improved peptide stability while keeping their functional activity, being Mut3DPT-C9h the most promising candidate. Biodistribution studies demonstrated that the modified peptide is able to reach the targeted tumor and accumulate there at higher concentration than the parental peptide.

PEP-Therapy, a biotechnology company developing targeted therapies for cancer treatments, is about to undertake regulatory development of Mut3DPT-C9h in cancers with high medical need.

---

## POSTER #11 - SESSION 3

### **Influence du couple formulation-procédé d'élaboration de biomatériaux sur la stabilité du lysozyme et de la nisine**

**Pascal DEGRAEVE** - Université Lyon 1 - laboratoire BioDyMIA

*Jbilou F., Colak B. Y., Galland S., Dole P., Assezat G., Prochazka F., Joly C., Oulahal N., Degraeve P.*

La nisine et le lysozyme sont respectivement un peptide et une protéine avec un statut de conservateur (E 234 ou E 1105). Leur incorporation dans des biopolymères permet d'obtenir des biomatériaux antimicrobiens pour ralentir leur relargage vers les aliments en contact et améliorer leur stabilité. Cependant, les traitements thermomécaniques employés dans le secteur de la plasturgie sont susceptibles d'inactiver des composés tels que la nisine ou le lysozyme.

Un choix adapté de la formulation (ajout de glycérol en quantité suffisante et limitation de la quantité d'eau) et des paramètres d'extrusion (température) a néanmoins permis d'obtenir des matériaux à base de farine ou d'amidon de maïs ou de caséinates de sodium tout en limitant l'inactivation du lysozyme et de la nisine.

Ainsi, suite à une extrusion mono-vis pendant 1 à 2 min à 90°C, des formulations de farine de maïs avec 1% de lysozyme ont respectivement conservé 8±2% ou 60±7% de l'activité enzymatique initiale selon que 25 ou 30% de glycérol étaient présents. Des granulés de caséinates avec également 1% de lysozyme obtenus par extrusion bi-vis ont permis de préparer des films par extrusion-gonflage à 80°C. De la même façon, les activités résiduelles du lysozyme dans ces granulés puis ces films de caséinates ont été respectivement de 31,9±0,7% ou 38,4±0,2% puis de 17,9±0,3% ou 22,5±0,2% selon que la formulation contenait 15 ou 20% de glycérol.

Une préparation commerciale de nisine a ensuite été incorporée à 4% dans les formulations (équivalent à 0,1% de nisine pure) préservant le mieux l'activité du lysozyme (à 30% ou 20% de glycérol pour l'amidon de maïs ou les caséinates de sodium). Des granulés plastifiés ont ensuite été obtenus dans les mêmes conditions que précédemment (respectivement par extrusion mono- ou bi-vis). Les granulés d'amidon de maïs ont ensuite été transformés en films par pressage pendant 1 min à 100°C. Les granulés de caséinates ont été transformés en films par extrusion-gonflage à 80°C

comme précédemment. L'application de ces conditions a également permis de préserver l'activité antibactérienne de la nisine.

Les travaux s'orientent donc désormais vers une optimisation multicritères du couple formulation-procédé d'élaboration pour obtenir des films antibactériens présentant aussi les propriétés traditionnelles (barrière ou mécaniques notamment) attendues.

POSTER #16 - SESSION 3

---

## **Le Synchrotron SOLEIL, accélérateur de recherche et d'innovation pour les sciences du vivant et les biotechnologies**

**Tatiana ISABET** - *Synchrotron SOLEIL*

Le Synchrotron SOLEIL, situé sur le plateau de Saclay, est un centre de recherche et de services à la recherche pour les études de la matière vivante et des matériaux complexes utilisant la lumière synchrotron comme sonde excitatrice. Cette lumière extrêmement intense et brillante et dont l'énergie est ajustable dans une très large gamme (allant des TéraHertz aux rayons X durs) est générée à partir d'un faisceau d'électrons porté à haute énergie par deux accélérateurs de particules.

L'activité de recherche et de services en biologie représente 25% de l'activité scientifique et plus de 80% des prestations industrielles de SOLEIL.

Une partie importante des études en biologie et en biomédical menées à SOLEIL concerne la stabilité des protéines et des peptides.

Comme dans la plupart des centres de rayonnement synchrotron, il existe en effet une forte activité en biologie structurale à SOLEIL, qui repose notamment sur deux lignes de lumière dédiées à la biocristallographie (PROXIMA 1 et 2). La détermination structurale est complétée par une ligne de lumière de diffusion aux petits angles (SWING), permettant l'étude d'assemblages moléculaires en solution, avec possibilité d'analyse complémentaire couplée in situ par HPLC, et par une ligne de lumière permettant l'étude du repliement des molécules par dichroïsme circulaire (DISCO).

Les lignes de lumière synchrotron permettent de dépasser les limites de performances des équipements d'analyse de laboratoire, grâce notamment à l'accordabilité de l'énergie dans un domaine spectral élargi et à une résolution plus élevée en raison de la brillance du faisceau synchrotron.

L'offre de SOLEIL

SOLEIL met ses équipements de haute performance et les compétences de ses ingénieurs et chercheurs à disposition de tous les acteurs ayant des besoins en analyses poussées, laboratoires de recherche, entreprises, hôpitaux... SOLEIL propose 3 modes d'accès aux lignes de lumière selon les besoins des utilisateurs : appel à projets scientifiques (sélection par des comités d'experts thématiques, gratuité en contrepartie d'une obligation de publication des résultats...), prestations de services « à la carte » (accès au fil de l'eau, confidentialité et rapidité garanties, facturation...) ou recherche partenariale (partage des moyens, des risques, des résultats...). Les scientifiques de lignes de SOLEIL sont mobilisés soit pour réaliser tout ou partie des études en prestation de services, soit pour accompagner les utilisateurs externes en soutien technique de leurs projets propres ou en expertise scientifique des projets collaboratifs.

SOLEIL vous donne rendez-vous les 23 et 24 septembre au colloque "Stabilité et formulation des protéines et des peptides : Enjeux et applications" afin de répondre à toutes vos questions.

Contact : Tatiana Isabet - Scientifique relations industrielles pour les sciences du vivant et la santé - [tatiana.isabet@synchrotron-soleil.fr](mailto:tatiana.isabet@synchrotron-soleil.fr)



## Native and stabilized membrane proteins for drug discovery: CALIXAR approach

**Sébastien IGONET - CALIXAR SAS**

*Emmanuel DEJEAN<sup>(1)</sup>, Elodie MANDON<sup>(1)</sup>, Sébastien IGONET<sup>(1)</sup>, Julien DAUVERGNE<sup>(1)</sup>, Vincent CORVEST<sup>(1)</sup>, Thomas IWEMA<sup>(1)</sup>, Morgane AGEZ<sup>(1)</sup>, Anne CHAMPAGNE<sup>(2)</sup> & Anass JAWHARI<sup>(1)</sup>*

<sup>(1)</sup> CALIXAR, 60 avenue Rockefeller, 69008 Lyon, France ; [www.calixar.com](http://www.calixar.com).

<sup>(2)</sup> CNRS, Institut de Chimie et Biologie de Protéines, 69007 Lyon, France.

Contact: [ajawhari@calixar.com](mailto:ajawhari@calixar.com).

Membrane proteins represents up to 70% of therapeutic targets that are involved in different key cellular processes and signaling events. Surprisingly, less than 1% of protein structures in the Protein Data Bank correspond to membrane proteins. Those targets are very often instable which represents a bottleneck for their production in homogenous and stable state suitable for structural studies, antibody development and HTS ligand screening. CALIXAR has developed a native approach consisting on native isolation of therapeutic targets from the expression, solubilization/stabilisation, purification to functional and structural characterization. Different expression systems including E.coli, Yeast, insect cells, CHO and HEK cells can be used, in addition to endogenous material (Organs, Primary cells, bacteria, and viruses). Expressed proteins are natively solubilized thanks to CALIXAR's patented technology based on innovative surfactants combination that helps to solubilize and stabilize at the same time. This presentation will describe examples of highly druggable targets that were produced in their most native state without any single mutation, truncation or fusion and that could exhibit striking thermo-stability increase and homogeneity improvement, while keeping their functional features. Despite the diversity of membrane protein classes and the variety of the biological starting materials, CALIXAR approach is successfully applied in customize manner to produce high quality proteins for pharmaceutical, biotech and academic partners as well as in the context of internal researches (CALIXAR's pipeline) on CNS disorders, cancer and infectious diseases. We are convinced that this will pave a way to more secure discovery programs and therefore to better drugs in the near future.

## Challenges and solutions to get high titer therapeutic protein formulations

**Karine PERON - MERCK MILLIPORE**

*Karine Péron, Yu Zou, Géraldine Esbach, Joshua Arias*

Biopharm industry is looking to replace current infusion-based drug administration with an injectable form for patient's comfort. New delivery devices allow for administration of highly viscous fluids, and liquid formulations are preferred over reconstituting lyophilized products. All require low volume and very high protein concentration, which is typically achieved through tangential flow filtration (TFF) with an ultrafiltration membrane. The challenges of this TFF step are:

1/ to develop a robust process able to handle high viscosity solutions.

This poster presents two options to handle high viscosity: a TFF device with a novel feed screen was developed to handle higher viscosities (25-30cP) compared to current levels (5-10cP). This new

device greatly reduces the feed channel pressure drop with minimal impact to mass transfer and flux. Another alternative to handle high viscosity is Single-pass TFF. A single-pass TFF system has a much lower hold up volume minimizing the dilution resulting from post-use recovery flushing.

2/ to select the right buffers and excipients to reach the targeted concentration with a stable protein.

A case study is presented where changing the final buffer allowed a final concentration close to 230 mg/ml whereas only 150–200 mg/mL could be reached with the initial buffer.

3/ to reach the targeted excipient concentration.

One challenge associated with high-concentration formulations is increased electrostatic interaction between proteins and excipients. That is a result of increased protein-charge density at high protein concentrations. Such interactions can create an offset between excipient levels in final products and diafiltration buffers in ultrafiltration processes. The effect of such electrostatic interactions in a membrane process is known as the Donnan effect. The poster will describe some methods to mitigate the Donnan Effect.

---

## POSTER #9 - SESSION 4

### **Peptidots : A new stabilization technology to solve protein formulation challenges**

**Thomas PERRIER** - *Carlina Technologies SAS*

*Thomas Perrier, Maud Gonnet, Olivier Meyer*

The development of new pharmaceutical products based on proteins or peptides is impaired by the complexity of these entities and tackled by their fragile structures. Among numerous protein formulation issues, stability of proteins/peptides arises as one of the most important. Many efforts have been done to control adverse phenomena such as irreversible aggregation, truncature, oxidation, deamidation, unfolding or misfolding. But despite these efforts, many developments are slowed down or stopped by the lack of technologies that would protect proteins/peptides from degradation. Herein, we present our patented Peptidots™ technology that allows to formulate proteins/peptides under a stable form. By means of this process, proteins/peptides are organized under the form of nanoparticles which protect them against degradation. These nanoparticles can therefore be formulated in any appropriate vehicles for controlled delivery while retaining full protein/peptide integrity and activity.

---

## POSTER #12 - SESSION 4

### **Automated Protein Formulation: From Formulation to Buffer Exchange, Stress Testing, and Analysis**

**Jos DE KEIJZER** - *Freeslate*

Buffer and excipient screening studies are important to formulation development of biopharmaceuticals. Preparation of protein drug substances into suitable liquid formulations is often accomplished by buffer exchange using a variety of methods that are both time consuming and labor

intensive. In this poster, we describe a novel and automated high throughput system based on UF/DF technology for buffer exchange of liquid protein formulations. In addition to the buffer exchange module, the different modules for formulations and the analytical integrated instruments will be discussed. Example of automated workflows and case studies are presented to demonstrate the utility of the new product.

---

## POSTER #17 - SESSION 4

### Engineering proteoliposomes using a cell-free system for the study of hepatitis C virus p7 protein

**Sandra CORTÈS** - *Synthelis*

Thomas Soranzo<sup>(1)</sup>, **Sandra Cortès**<sup>(1)</sup>, B. Lu<sup>(2)</sup>, D. Martin<sup>(3)</sup>, E. Drouet<sup>(4)</sup>, J. Schmidt<sup>(2)</sup>, B. Tillier<sup>(1)</sup>, A. Abadie<sup>(1)</sup>, J. Lenormand<sup>(5)</sup>

<sup>1</sup> *Synthelis, Biopolis building, 5, avenue du Grand Sablon 38700 La Tronche, FRANCE; www.synthelis.com*

<sup>2</sup> *University of California (Los Angeles, US),*

<sup>3</sup> *GMCAO (La Tronche, FR)*

<sup>4</sup> *Unit of Virus Host Cell Interactions (Grenoble, FR)*

<sup>5</sup> *HumProTher laboratory (La Tronche, FR)*

As membrane proteins are a difficult class of protein to express in classical systems, cell-free technology offers an efficient alternative to overcome this challenge. These open systems allow the use of detergents to produce solubilized membrane proteins, while liposome addition allows rapid production of proteoliposomes. This later format has been shown to be promising for delivery of therapeutic proteins, as well as vaccine and antibody development. Using an E.coli cell-free system, we expressed p7, a small membrane protein from Hepatitis C virus that oligomerises to form a cation selective viroporin. Several studies have demonstrated that p7 is also a drug target of interest. Here, we show preliminary structural data using circular dichroism as well as functional assays using two electrophysiological methods with a potential for high throughput screening of p7 inhibitors.

We were able to obtain high yield of p7 protein. The use of detergents allowed us to express and purify a properly folded p7 protein. Cell-free technology is also a powerful method for producing proteoliposomes containing functional membrane proteins. Indeed, electrophysiological recordings showed channel activity of p7 expressed in proteoliposomes. This format is easily compatible with impedance spectroscopy and droplet lipid bilayer techniques. Novel platforms for high throughput screening of p7 inhibitors are under development and new drugs for HCV therapy could appear.

---

## POSTER #10 - SESSION 5

### Shelf-life prediction of products by using advanced kinetics and statistical analyses on forced degradation data

**Didier CLENET** - *Sanofi-Pasteur*

Frederic Imbert, Patricia Probeck, Aure Saulnier, Fernando Ausar, Nausheen Rahman, Sandrine Cigarini, **Didier Cletnet**

The stability of vaccines is a critical factor influencing their worldwide distribution and has a major impact on vaccine quality, potency, and storage conditions. The thermal stability of vaccines, is of great interest for the vaccine industry, government institutions, and philanthropic organizations

attempting to increase the distribution of vaccines to people living in countries with poor infrastructure and unreliable transportation and storage facilities. We have used protein-based vaccines, live virus vaccines, and experimental adjuvants to evaluate an advanced kinetic modeling approach. This approach uses a systematic and simple procedure for the selection of the most appropriate kinetic equation to determine the degradation rate of compounds due to accelerated temperature exposure. One-step and two-step reactions with unlimited combinations of kinetic models were screened for the three products under evaluation. The most appropriate mathematical model for each product is chosen based on the values of residual sum of squares and weight parameter. A relatively simple n-th order kinetic model best fitted the degradation of protein-based vaccines with a prediction error lower than 10%. A more complex two-step model was required for some virus based vaccines. Finally, an autocatalytic-type kinetic model best fitted the degradation of an oil-in-water adjuvant.

The modeling approach described here could be used for multiple purposes: stability prediction for expiry date estimation, temperature excursion during transportation, formulations ranking, batch to batch comparability and support to manufacturing process changes.

To the best of our knowledge, this is the first procedure mixing a global kinetic approach and statistical analyses to accurately determine a vaccine degradation rate from product exposure to temperature greater than those recommended for storage.

POSTER #14 - SESSION 5

---

## Multiple light scattering to predict stability of emulsions with polymers

Gérard MEUNIER - *Formulation*

Christelle TISSERAND, Giovanni BRAMBILLA, Gérard MEUNIER

Polymers are widely used in the industry as a tool to increase the stability. Depending on their concentration, they can act as depletion agents or gel agent. The stability of these systems is driven by the polymers and the structure of the network of droplets and can lead to collapse of the emulsions.

In this work, Multiple Light Scattering device is used to monitor the behaviour of w/o emulsions stabilized with polymers. The heart of the optical scanning analyser is a detection head, which moves up and down along a flat-bottomed cylindrical glass cell (see figure). The detection head is composed of a pulsed near infrared light source (wavelength = 880 nm) and two synchronous detectors. The transmission detector (at 180 ) receives the light, which goes through the sample, while the backscattering detector (at 45 ) receives the light scattered backward by the sample. The detection head scans the entire height of the sample, acquiring transmission and backscattering data every 40  m.

We propose a description of the behaviour of o/w emulsions stabilized with different polysaccharides, we will show the advantages of using Multiple Light Scattering (MLS) to monitor their stability and propose a method to predict stability of these emulsions thanks to their size evolution in the first days after preparation.

## *Parcours des intervenants et des membres des comités*

### **Alain ASTIER**

Le professeur Alain Astier a obtenu un doctorat de pharmacie, option industrie, en 1972 (Faculté de pharmacie, Paris) et un doctorat es sciences en chimie organique et structurale en 1976 (Université Paris XI, Orsay), travaux réalisés comme attaché de recherche à l'institut de Chimie des Substances Naturelles (CNRS, Gif). Il a également qualifié en radiobiologie (CEA, Saclay, 1981) et en technologie de culture cellulaire (Ecole Pratique des Hautes Etudes, 1984).

Il a été professeur de pharmacie clinique et biotechniques (faculté de Pharmacie, Université de Lorraine, Nancy) jusqu'en 2007 (honoraire) après avoir été maître de conférence en chimie thérapeutique (1977-1981; Paris XI). Il est actuellement chef du pôle de pharmacie, Hôpitaux Universitaires Henri Mondor, Faculté de Médecine Paris 12, après avoir été chef de service depuis 1977.

Il est membre titulaire de l'Académie Nationale de Pharmacie (France) et est président de la 5ème section de celle-ci. Il a été lauréat en 2001 du prestigieux Prix Galien de la recherche pharmaceutique pour ses travaux sur fomépizole, comme antidote de l'éthylène glycol et l'empoisonnement au méthanol.

Les intérêts de recherche du professeur Astier comprennent

- Toxicologie clinique et analytique
- Pharmacologie expérimentale et clinique, la pharmacocinétique des médicaments anticancéreux et immunosuppresseurs
- Nouvelles formulations et stabilité des médicaments anticancéreux, en particulier des anticorps monoclonaux, domaine recherche dans laquelle il est considéré comme l'un des meilleurs experts pharmaceutiques en France.

Son unité de recherche dépend de l'UMRS CNRS 7054, Faculté de Médecine, Université Paris XII.

Jusqu'à présent, il a signé plus de 200 articles scientifiques dans des revues à comité de lecture, 250 communications dans des congrès scientifiques et dirigé plus de 120 diplômés universitaires. Il a été membre de nombreux comités scientifiques et président de plusieurs congrès internationaux tels que l'ESCP ou ECCO.

Il est/a été membre actif de plusieurs conseils d'experts de l'Agence de la santé française (ANSM) comme le groupe formulaire national hospitalier (président) et l'Institut National du Cancer (INCa). Il est également membre du nouveau comité des médicaments de l'EORTC. Il est actuellement vice-président de l'ESOP (European Society of Oncology Pharmacy), Vice-président de la Société française de pharmacie d'oncologie (SFPO), « board member » de l'ECCO, et rédacteur en chef des Annales Pharmaceutiques Françaises, journal officiel de l'Académie de pharmacie.

Il entretient depuis des années des relations régulières avec l'ULB (Université Libre de Bruxelles ; Prof. JM Kauffman, Prof. Rik de Clerq) et l'Université Catholique de Louvain (Prof. JD Hecq). En 2014, il a dirigé les groupes d'évaluation de la recherche de la faculté de pharmacie et de l'école de santé publique de l'ULB.

### **Frank BOURY**

Frank Boury, 50 years old, PharmD, obtained his PhD degree at the University of Paris XI in 1995 awarded by a fellowship from GTRV (Thematic group of research on vectors) and by APGI (Industrial pharmaceutical technologies association). He exerts his professional activity at the School of Engineering ISTIA+ (University of Angers) where he teaches formulation sciences and biophysics. From 2008, he is also the vice-director of the doctoral school Biology-Health Nantes and the director of the M.Sc. "Innovative technologies in formulation". From 2011 he is the coordinator of the Erasmus Mundus Joint Doctorate European Doctorate in Nanomedicine and Pharmaceutical Innovation "NanoFar" (6 partners, 6M€, 40 international PhD students involved). He is the principal investigator of several ANR, and of several industrial projects. He is involved in several projects funded by Region Pays de la Loire. He is author of 90 scientific publications and of more than 100 papers presented at international conferences. He organized several summer schools in the field of nanomedicine in collaboration with many academic and industrial partners. He is particularly interested by Supercritical Fluid Technologies (SCF) aiming at developing nano-micromedicine for the controlled release of protein and fragile molecules.

From 2013, Frank Boury is also Chair of the WG « education&training » European Technology Platform of Nanomedicine (ETPN) and member of the ExBo of ETPN.

#### **Patrick BRON**

Mr Patrick Bron est Biophysicien et Directeur de Recherche à l'INSERM. Il démarre sa carrière scientifique en 1993 lors de son stage de DEA effectué au sein de l'équipe du Pr. Jean Gouranton (Université de Rennes I), où il découvre une technique qui va guider l'ensemble de ses recherches, la microscopie électronique à transmission. Il travaille alors sur l'étude structurale de protéines membranaires appartenant à la famille MIP (Université de Rennes), ainsi que sur celle du complexe cytochrome b6f (Institut Curie, Paris). Il part ensuite faire un stage postdoctoral à l'institut Max-Planck de Biophysique de Francfort (Allemagne) dans l'équipe de Werner Kulhbrandt où il cherche à approfondir la compréhension de l'organisation structurale de la H<sup>+</sup>-ATPase. Il obtient ensuite un poste de Maître de Conférences à l'Université de Rennes, où il enseigne et gère plusieurs modules de biochimie structurale et de biophysique. Au cours de cette période, il s'intéresse progressivement à la structure et la transmission virale. Après presque 10 ans passés à l'université, il rejoint l'INSERM et crée une équipe de recherche au sein du Centre de Biochimie Structurale (CBS) de Montpellier. Il y implante et développe la cryo-microscopie électronique et le traitement d'image. Avec la volonté de combiner et d'intégrer plusieurs approches structurales pour répondre à ses problématiques biologiques, il crée une équipe regroupant à la fois des microscopistes et des cristallographes. Il se focalise alors sur l'étude de la structure de virus et des mécanismes moléculaires impliqués dans la transmission virale. De part les sujets traités, il interagit régulièrement avec les équipes du CBS qui utilisent la résonance magnétique nucléaire et la microscopie à force atomique. Dans ce contexte, il prend en charge la Plateforme Intégrée de Biologie Structurale en 2012. Ses activités de recherche ainsi que son savoir-faire technique lui permettent d'avoir de nombreuses collaborations nationales et internationales et d'interagir très fréquemment avec des sociétés biotechnologiques et pharmaceutiques.

#### **Frédéric CAZALS**

F. Cazals' scientific interests lie at the crossroads of theoretical computer science and biology, two disciplines he has been focusing on since my his undergrad studies at Institut National Agronomique and Ecole Normale Supérieure / Ecole polytechnique / Paris VII.

His research career decomposes into two periods. The first one (1997-2006) was dedicated to geometric modeling at large, with major contributions to several problems, including provably correct algorithms to reconstruct 3D shapes from point cloud data—with one algorithm transferred to the worldwide leader of CAD systems, provably correct estimation of (local and global) differential properties of surfaces from discrete representations, and robust geometric software, with contributions to the Computational Geometry Algorithms Library (CGAL, <http://www.cgal.org>).

The second one, started in 2007, focuses on modeling the structure and dynamics of biomolecular systems. This activity is especially challenging, as it relies on four pillars: advanced algorithms, complex biophysical models, challenging biological problems, and equally challenging software developments. In this context, he has been pioneering approaches involving advanced geometric, topological and combinatorial algorithms triggered by specific questions in computational structural biology. His main contributions relate to the problem of modeling protein complexes.

These contributions should strike a major impact thanks to the release during the summer 2015 of the Structural Bioinformatics Library (SBL, <http://sbl.inria.fr>). The SBL is indeed a dissemination vector combining two levels. At the low algorithmic level, the SBL brings advanced algorithms accessible at a large scale, in a spirit analogous to those of now essential libraries such as The Standard Template Library, the BOOST C++ libraries, or CGAL. At the application level, it provides end-user applications for space-filling models, conformational analysis, and large assemblies.

#### **Denis CHÉREAU**

Denis Chéreau est titulaire d'un doctorat en microbiologie obtenu à l'INRA de Dijon en 1986, dans la station de génie microbiologique de messieurs H Blachère et A Durand, sur la production de protéines d'organismes unicellulaires par fermentation en milieu solide. Il a participé à la création de la société Lyven spécialisée dans la production et la commercialisation de préparations enzymatiques obtenues par fermentation en milieu solide et destinées entre autres aux marchés des jus de fruits, de la panification et à l'alimentation animale. Il a ensuite travaillé dans le secteur de l'amidonnerie comme directeur technique en France et aux USA et à assurer une fonction de direction d'usine pendant 9 ans dans 2 unités du groupe Tereos Syral en Picardie et en Alsace. Il est actuellement chef du projet IMPROVE qui vise à créer une plateforme mutualisée d'innovation destinée à la valorisation des protéines végétales. Cette plateforme est portée par 13 partenaires industriels académiques et financiers, elle devrait débiter ses activités de recherche fin 2013 à Amiens.

#### **Didier CLENET**

Senior Scientist in Formulation R&D platform at Sanofi-Pasteur (Marcy l'étoile)

Didier Clenet joined Sanofi R&D in 1996. From 2011, he is senior research scientist in Formulation R&D platform at Sanofi-Pasteur. He focuses his work on high throughput screening formulation, the use of advanced kinetics regarding long term stability predictions, the impact of primary materials on vaccine stability and aggregates and particles characterization in vaccines.

Before that, Didier led Biophysical lab in Sanofi R&D (Vitry - France) from 2007 to 2011. His research interests were about DS and DP characterization, including high concentrated antibody formulations and freeze-dried protein products. Physical and biophysical tools were implemented on mAbs and ADC projects. They were about aggregation state determination (light scattering, flow-imaging, image analysis, turbidity), colloidal stability (SLS, SAXS), structural

characterization (FT-IR, intr. and extr.fluorescence, time-resolved, DSC), kinetic stability (isoconversional approach) and freeze-dried biologicals physical stability (XRPD, DSC, water sorption-desorption, front surface fluorescence spectroscopy).

From 1996 to 2007, Didier was dedicated on physical method development in GMP environment for API and DP solid forms for releases. He implemented original X-ray diffraction methods using in-silico approaches and developed calorimetric methods to promptly characterize and quantify polymorphism and amorphous mixtures.

Didier has managed several collaborations with suppliers and academics in physics and biophysics fields. He received his Master degree in 2002 from University of Lille, France and now gives periodically courses at Grenoble and Angers Universities (France).

#### **Patrick COUVREUR**

Patrick COUVREUR est Professeur de Pharmacotechnie à l'Université Paris-Sud, Membre de l'Académie des Sciences et Membre de l'Institut Universitaire de France (IUF). De 1998 à 2010 il a dirigé l'UMR CNRS 8612 et en 2000, il a créé l'Ecole Doctorale « Innovation Thérapeutique ». Titulaire de la Chaire d'Innovations Technologiques du Collège de France (2009-2010), il a obtenu pour ses travaux un « ERC Advanced Grant » de 2,3 millions d'euros. Patrick COUVREUR est reconnu au niveau international pour ses travaux pionniers dans le domaine de la vectorisation des médicaments (Nanomédicaments) pour lesquels il a obtenu de nombreuses distinctions scientifiques en France (Prix Galien 2009, Médaille de l'Innovation du CNRS 2012) et à l'étranger (2004 Pharmaceutical Sciences World Congress Award, la prestigieuse Host-Madsen Medal en 2007, l'European Pharmaceutical Scientist Award en 2011, l'European Inventor Award 2013 et le Peter Speiser Award 2014 etc.). Il a publié plus de 500 articles de recherche, est l'inventeur de plus de 90 brevets et a publié 7 ouvrages. Outre l'Académie des Sciences, il est également membre de l'Académie des Technologies, de l'Académie de Pharmacie, membre correspondant de l'Académie de Médecine et membre étranger de la US National Academy of Medicine (USA), de la US National Academy of Engineering (USA), de l'Académie Royale de Médecine (Belgique) et de l'Académie Nationale de Pharmacie (Espagne). Il a contribué à la création de deux start-ups (Bioalliance et Medsqual). Un nanomédicament issu de ses travaux est actuellement en phase clinique III pour le traitement de l'hépatocarcinome résistant.

#### **Benoit CUDENNEC**

Benoit Cudennec, 35 ans, est docteur en Biotechnologies Marines et Physiologie du Muséum National d'Histoire Naturelle depuis 2009. Ses activités de recherche au cours de son doctorat et post-doctorat au sein de l'UMR BOREA (CNRS-7208, IRD-207, UPMC, MNHN) ont concerné certaines activités biologiques des peptides contenus dans des hydrolysats protéiques issus des co-produits de la pêche. Il est actuellement Maître de Conférences à l'Université Lille1 depuis 2011. Il anime et développe, au sein de l'Institut Régional de Recherche en Agroalimentaire et Biotechnologie Charles Viollette, une thématique de recherche pluridisciplinaire qui concerne l'étude des mécanismes qui potentialisent les actions physiologiques des peptides, générés au cours de la digestion des protéines alimentaires, en relation avec le métabolisme énergétique. Il est l'auteur de 11 publications dans des revues internationales à comité de lecture, de 3 chapitres d'ouvrages et d'un brevet étendu à l'international.

#### **Michel DESMADRIL**

M. Michel Desmadril est Directeur de Recherche au CNRS.

Il a obtenu son diplôme de Doctorat es Sciences biologiques en 1984, ses travaux portant sur l'étude du repliement des protéines. Il a ensuite effectué un stage postdoctoral à Regensburg où il a développé ses connaissances dans le domaine de la microcalorimétrie.

De retour en France, il crée son équipe qui est l'une des premières à disposer de la technologie DSC et ITC. Ses intérêts de recherche évoluent vers l'ingénierie des protéines : il travaille sur des architectures protéiques destinées au ciblage moléculaire.

En 2000, il est nommé directeur adjoint de l'IBBMC et en 2010 il en devient le directeur jusqu'à la fusion de cette unité en 2015 avec 7 autres pour créer l'Institut de Biologie Intégrative de la Cellule (I2BC). Il a été Vice-Président Recherche de Département de Biologie de la Faculté des Sciences d'Orsay de 2010 à 2015.

Aujourd'hui, son équipe est principalement intéressée par la caractérisation thermodynamique des interactions protéine-protéine, avec comme but de créer de nouvelles architectures protéiques destinées à la reconnaissance moléculaire. De telles architectures, tout en permettant de mieux comprendre les interactions protéine-protéine, sont aujourd'hui utilisées pour aider à la cristallisation de protéines.

En parallèle à ses travaux de recherches, M. Desmadril a créé dès 2000 une plateforme de microcalorimétrie et en 2004 il a mis en place une formation CNRS-Entreprise dédiée à la microcalorimétrie. Aujourd'hui, cette plateforme s'est étendue à l'ensemble des techniques d'étude d'interactions macromoléculaires et cette nouvelle plateforme fait partie des 15 plateformes de l'I2BC dont M. Desmadril est le responsable.

**Pascal DHULSTER**

Professeur des Universités IUT A

Cursus universitaire :

1976 Diplôme Universitaire de Technologie (DUT) Option Industrie Alimentaire IUT Créteil •1980 Diplôme d'Ingénieur Génie Biologique Université de Technologie de Compiègne (U.T.C.)

1981 DEA (UTC), microbiologie, technologie enzymatique, bioconversion.

1984 Diplôme de Docteur Ingénieur (U.T.C.)

1994 Habilitation à Diriger des Recherches en Sciences Naturelles ( USTL)

Parcours professionnel :

1984-1986: Ingénieur de recherche, UTC- GRADIENT

1986-1989: Assistant associé en GIA, IUT A Lille1

1989-1995 : Maître de conférences en GIA, IUT A Lille1

1995-2011 : Professeur en GIA, IUT A Lille1

2008-2013 : Directeur Laboratoire ProBioGEM (EA 1026)

Activités de recherche, programme et encadrement :

L'objectif de ces recherches est de développer dans le laboratoire une recherche en bioprocédé basée sur des approches micro-cinétique et macro-cinétique. La micro-cinétique permettra d'étudier le comportement des catalyseurs biologiques (enzymes, bactéries ou cellules) lors de leurs mises en œuvre en bioréacteurs. Cette approche permettra de concevoir de nouveaux bioprocédés et de modéliser les termes de réactions. Dans le cadre de la macro-cinétique on pourra s'intéresser à l'optimisation et à la maîtrise des bioprocédés qui sont toujours fort complexes, même si par moment ils semblent bien simples. Ainsi les concepts d'intensification de procédé amènent-ils à imaginer des couplages d'opérations originaux ou des modes opératoires nouveaux, où les transferts de quantité de mouvement sont associés aux transferts de matière, les bioréactions associées à des techniques séparatives pour améliorer la productivité et la sélectivité. Notre action porte plus spécifiquement sur le couplage de procédés bio catalytiques et à des techniques séparatives à membrane, avec l'objectif de développer une recherche amont sur le concept de couplage de procédés en étudiant spécifiquement : L'amélioration de la productivité et de la sélectivité d'obtention de peptides à activités ou propriétés physico-chimiques définies par couplage de procédés séparatifs à des bioréacteurs (réacteurs enzymatiques et fermenteurs à membranes). En ce qui concerne le couplage de réacteurs enzymatiques à des techniques séparatives nous cherchons à développer le concept de membrane contacteur en extraction liquide- liquide et d'électro-ultrafiltration à la séparation sélective des peptides. Nous cherchons d'autre part à développer un bioréacteur à membrane pour la production de lipopeptides (surfactine) par *Bacillus subtilis* : Modification qualitative et quantitative de la production de bio molécules par couplage d'une extraction continue à une fermentation à haute densité cellulaire. Ces recherches s'inscrivent dans le champ plus large de la valorisation de sources de protéines alimentaires (crûor porcine, concentré protéique de luzerne) par hydrolyse enzymatique contrôlée en réacteur à membrane : Conception, mise en œuvre, optimisation de procédés d'obtention d'hydrolysats peptidiques parfaitement définis à l'échelle pilote de 100 litres. Mise en évidence de propriétés d'usage des hydrolysats.

Production scientifique et encadrement

50 articles dans des journaux internationaux à comité de lecture, 62 communications orales et par affiches, nationales et internationales.

Directions et codirections de thèse : 16

**Jacques DUMAS**

Head of Protein Biotherapeutics I- Key interface contact for the interface Biotherapeutics - DSAR

Sanofi Vitry

Global interface between the Biotherapeutics and Drug Safety and Animal Research

**Christophe FLAHAUT**

Dr. Christophe FLAHAUT, 44 years old, married, two children, has a Ph. D degree in Biochemistry of the University of Sciences and Technology Lille 1 (2001). Since 2003, he is Associate Professor in Biochemistry at the University of Artois, in the north of France. He is lecturer in Licence (Biochemistry and Biology) and agro-food Master degrees where he teaches the enzymology, the protein purification and characterization technologies, the metabolisms (i) of fatty acids, (ii) nucleic acids, (iii) amino acids, the applied bio-informatics and the biochemistry of foods. He is responsible of a professional Licence entitled "Biotechnology and engineering process applied to drinks".

His research activities were dedicated during 10 years to the proteomic approach of the Blood-Brain Barrier (BBB) where he has been responsible of the setting-up of a proteomics plate-form (spot picker, digester, LC-MS/MS, biomarker discovery robot and associated software) based on a MALDI-TOF/TOF mass spectrometer (Bruker Daltonics). Since September 2013, he works in quality and safety of foods within the agro-food and biotechnology research institute named institute Charles VIOLLETTE where he participates to the setting-up of two mass spectrometers (Synapt G2S, from Waters and Autoflexspeed from Bruker Daltonics) on the REALCAT platform <http://www.chemistryviews.org/details/ezone/4635391/>



REALCAT\_Driving\_Innovation\_in\_Catalysis.html). His main research activity is dedicated to the identification and characterization of peptides and of microorganisms by ESI-MS/MS and MALDI-TOF mass spectrometry. He is author of 15 scientific papers, 2 reviews, 3 chapters of book, 19 oral communications and 58 posters in international and national scientific meetings. He is the principal contributor of one patent (undergoing) and associated to another one patent (undergoing, too).

### **Sylvain HUILLE**

Head of Formulation, Bio-Realization, Sanofi

Sylvain Huille is head of formulation for biotherapeutics at Sanofi Vitry in Bio-Realization since 2011.

Before he joined Sanofi in 2011, he worked 6 years at the Laboratoire Français des Biotechnologies (LFB) where he was head of department in charge of the early development of injectable protein-based drug products as well as new drug delivery systems for lifecycle management of plasma derived biopharmaceuticals.

Prior LFB, Sylvain Huille held various positions at Flamel Technologies in research as project director and pilot unit manager. He conceived and developed the Medusa® technology applied for sustained release of proteins.

He started his career as a research scientist in the materials science department at Rhone-Poulenc for the design of new materials and products.

Sylvain Huille received his Ph.D degree in 1992 from the University of Montpellier, France. He holds the degree of engineer in chemistry from the Ecole Nationale Supérieure de Chimie

### **Romain KAPEL**

Romain KAPEL est titulaire d'un doctorat en génie des bio-procédés (obtenu en 2005) à l'université de Lille 1 au laboratoire ProBioGEM. Ses activités de recherches sont actuellement réalisées au Laboratoire Réaction et Génie des Procédés (LRGP, UMR CNRS 7274), dans l'équipe Bioprocédés-Biomolécules. Celles-ci sont centrées sur le développement de méthodologies génériques d'étude visant à améliorer la maîtrise des opérations unitaires impliquées dans la valorisation de protéines issues d'agro-ressources d'origine végétale (extraction solide/liquide, protéolyse enzymatique et procédés de séparations appliquées à l'enrichissement d'hydrolysats en peptides bioactifs cibles). Il est directeur des études 2A à l'IUT de Nancy-Brabois au département de Génie Chimique-Génie des Procédés et responsable des enseignements de biochimie, réacteurs biologiques et bioséparations.

### **Danielle LANDO**

Danielle Lando est titulaire d'un doctorat d'état obtenu à l'Institut Pasteur pour la recherche en virologie. Elle a effectué sa carrière dans l'industrie pharmaceutique où elle a exercé des fonctions de chercheur en pharmacologie cellulaire et moléculaire avant de prendre la responsabilité des biotechnologies au sein de Roussel Uclaf devenu Aventis.

Elle a œuvré pour des rapprochements entre son entreprise et le secteur académique en soutenant des projets collaboratifs. Elle a été membre nommé au Comité National du CNRS de 1995 à 2000.

Depuis 2001, elle exerce des activités scientifiques bénévoles au sein d'Adebiotech et est actuellement vice Présidente d'Adebiotech.

### **Maud LARREGOLA**

Dr. Maud Larregola is scientific consultant in molecular biology at the PeptLab@UCP platform of the University of Cergy-Pontoise since 2013 and Associate Professor in chemistry at the Laboratory of Chemical Biology of the University of Cergy-Pontoise since 2011. In 2010-2011 during her post-doc in the laboratory of Prof. Nediljko Budisa at the Technical University of Berlin and the Max Planck Institute of Biochemistry of Martinsried in Germany she engineered a bio-adhesive protein by incorporation of synthetic amino acids. She completed her PhD in 2009 in peptide chemistry, conformational analysis and biochemistry under the supervision of Prof. Solange Lavielle at the University Pierre et Marie Curie in Paris. She is author of 16 peer-reviewed articles in journals or books and she presented 9 oral and 22 poster communications in national and international symposia.

### **Claudine MAYER**

Claudine Mayer est professeure de biologie structurale à l'Université Paris Diderot et effectue sa recherche à l'Institut Pasteur. Après un doctorat en cristallographie biologique à Strasbourg sous la direction de Dino Moras et un post-doctorat dans le département de biologie structurale et bioinformatique de l'EMBL d'Heidelberg (Allemagne), elle a été recrutée Maître de Conférences à l'Université Pierre et Marie Curie en 2000 puis nommée professeure à l'Université Paris Diderot en 2008. Après avoir concentré ses recherches sur les études structurales de protéines impliquées dans la biosynthèse du peptidoglycane, elle a rejoint en 2008 l'unité de microbiologie structurale dirigée par Pedro Alzari à l'Institut Pasteur. Elle a 20 ans d'expertise dans la résolution de structures d'ADN et de protéines par diffraction des rayons X et ses recherches, aujourd'hui, s'articulent, depuis plus de 8 ans, autour des études structurales et fonctionnelles de l'ADN gyrase de Mycobacterium tuberculosis, une enzyme cible d'une famille majeure d'antibiotiques manipulant l'ADN. Elle a publié plus de 40 articles de recherche, un brevet et 2 chapitres de livre. Elle a activement participé à l'année internationale de la Cristallographie en 2014 et a notamment contribué à la Lettre de l'Académie des Sciences de l'automne-hiver 2014 intitulée « la cristallographie décrypte la matière ».

## **Nicolas MIGNARD**

### **Dario NERI**

Born in Rome (Italy) on 1 May 1963, Dario Neri studied Chemistry at the Scuola Normale Superiore of Pisa, graduating with a thesis on the synthesis and characterization of complex polyunsaturated secondary metabolites, isolated from higher plants. He earned his doctorate in Chemistry under the supervision of Prof. Dr. Kurt Wüthrich at the Institute of Molecular Biology and Biophysics of the ETH Zürich in 1992, receiving the Silver Medal of ETH Zürich for his dissertation.

With an EU Bridge Bursary, Dario Neri worked from 1992 until 1996 at the Cambridge Centre for Protein Engineering, Medical Research Council Centre, under the supervision of Sir Gregory Winter. He has now been a Professor at the ETH Zurich since 1996.

The research of the group Neri focuses on the engineering of therapeutic antibodies for the treatment of cancer and of chronic inflammatory conditions. Other research activities include the development of DNA-encoded chemical libraries and of small molecule-drug conjugates. Furthermore, the group uses mass spectrometry methodologies for the discovery of vascular markers of disease and for HLA peptidome analysis.

Dario Neri is a co-founder of Philogen ([www.philogen.com](http://www.philogen.com)), a Swiss-Italian Biotech company which has brought five antibody products to Phase II clinical trials for the therapy of cancer and of rheumatoid arthritis.

Dario Neri has published over 300 articles in peer-reviewed scientific journals. He is the recipient of the ISOBM Abbott Prize 2000, of the Amgen-Dompe' Biotec Award 2000, of the Mangia d'Oro 2001, of the Prous Award 2006 of the European Federation of Medicinal Chemistry, of the Robert-Wenner-Prize 2007 of the Swiss Cancer League, of the SWISS BRIDGE Award 2008, of the 2011 Prix Mentzer of the French Society for Medicinal Chemistry (RICT) and of the Phoenix Award 2014 for Pharmacology and Clinical Pharmacy.

### **Anna Maria PAPINI**

Prof. Dr. Anna Maria Papini is a chemical biologist expert in peptide and protein chemistry and biology. She is the founder and director of the platform PeptLab@UCP associated at the Laboratory of Chemical Biology of the University of Cergy-Pontoise, with the mission to favor R&D of peptide-based projects in the interest of SMEs. She is the coordinator of the French-Italian Interdepartmental Laboratory of Peptide & Protein Chemistry & Biology ([www.peptlab.eu](http://www.peptlab.eu)) associating the Departments of Chemistry, Neurosciences & Pharmaceutical Sciences of the University of Florence and the Laboratory of Chemical Biology of the University of Cergy-Pontoise. She completed her International PhD in Chemical Biology in 1991, under the supervision of Prof. Luis Moroder of the Max Planck Institut fuer Biochemie. Since the beginning of her career she has been involved in translational research. She is Full Professor of Biorganic Chemistry of the French and Italian universities and she is Laureate of the "Chaire d'Excellence" of the French Agence Nationale de la Recherche for the project PepKit (2009-2014). For the period 2011-2020, she has been nominated Treasurer and Member of the Executive Committee of The European Peptide Society. In 2008 she was the recipient of the Leonidas Zervas Award in recognition of her outstanding contribution to peptide science and of the 1st Dimitrios Theodoropoulos Memorial Award. Since 2013 she is Coordinator of the International Affairs of the School of Science of the University of Florence. Together with Philip E. Dawson she vice chaired the 2014 Gordon Research Conference on the Chemistry and Biology of Peptides, "Peptide Science in the Era of Synthetic Biology" and will chair the 2016 GRC Edition. She is cofounder of the first spin-off of the University of Florence EspiKem Srl launched in 2003 and of the start up Toscana Biomarkers 2007-2014 whose mission was R&D of peptide-based diagnostics of autoimmune diseases. For that she got in 2009 the Frost & Sullivan Excellence in Research Award in the European autoimmune disease diagnostics market & the Vespucci Award of the Regione Toscana for the perspectives of development of the company aimed to research and production of innovative diagnostic methodologies for autoimmune diseases, i.e., multiple sclerosis and rheumatoid arthritis. She is author of more than 303 peer-reviewed articles: 122 articles in peer reviewed scientific journals and 181 articles in peer reviewed books. Author of 10 filed patents. Full list is available at [www.peptlab.eu](http://www.peptlab.eu). She was invited to present 103 lectures in International Symposia, Universities and Research Centres. 41 oral & 230 poster communications were selected for presentations in international symposia. Moreover she was invited to present 10 lectures aimed to technology transfer in the global space of R&D (2 in extra-European countries and 8 in Europe). She was supervisor of 18 finalized PhD theses as well as 28 diploma and master theses. Tutor of Erasmus students: 18 Traineeship for periods going from 4 months till 1 year, 12 Master and 6 PhD students.

Snap-shot of the group (as of June 2015): 5 PhDs; 5 Post-docs; 1 Ingénieur de recherche; 2 Associate Professors; 5 Master students; 3 Bachelor students; 3 Erasmus placement students.

### **Gérald PERRET**

Titulaire d'un Doctorat en Biochimie et Biologie Moléculaire, mes travaux de thèse ont portés notamment sur des applications analytiques des Aptamères.

Ma carrière professionnelle a démarré en tant que scientifique de 2001 à 2004 à Sanofi au centre de recherche de Paris, j'ai ensuite occupé un poste de responsable d'équipe Biochimie-Biologie Moléculaire au sein du Département de Support Analytique des Affaires Industrielles de Sanofi de 2004 à 2006. J'ai rejoint le LFB en 2006 au sein du Développement Préclinique pour occuper le poste d'Adjoint au Responsable d'Unité Caractérisation Biologique puis ensuite celui de Responsable du Laboratoire de Caractérisation Biomoléculaire et en 2012 j'ai également pris la responsabilité des Bioprocédés Innovants au sein de la Direction de l'Innovation Technologique. Dans le cadre de mes travaux je suis inventeur sur 12 brevets essentiellement dans le domaine des Aptamères, des technologies analytiques et de la chromatographie d'affinité.

### **Sylvain PEYRACHE**

Après un premier cycle universitaire en Biochimie, Sylvain a poursuivi ses études par un Master en Sciences Analytiques orienté vers la caractérisation des protéines. Il a séjourné en Irlande lors de ses stages en Biologie cellulaire chez Luxcel Biosciences à Cork, puis en cristallographie des protéines au Trinity College de Dublin. Il a ensuite travaillé sur la caractérisation et le développement de formulations de protéines à haute concentration chez Adocia. Diplômé de l'école de management de Grenoble, Sylvain a ensuite participé à la coordination et à l'animation d'un réseau d'experts chez Sanofi Pasteur. Aujourd'hui en charge de l'innovation et des partenariats, il continue un travail d'animation scientifique et de business development autour d'Accinov, la plateforme d'innovation de Lyonbiopôle.

### **Gilles PONCHEL**

Prof. Gilles Ponchel is full professor at the University of Paris-South since 2000, where he teaches Pharmaceutical Technology and Biopharmacy. He is leading a multidisciplinary research team belonging to the Institut Galien Université Paris-Sud and specialized in the field of drug delivery. The aim of the team is to conceive and to develop innovative drug delivery systems able to improve the crossing of active drugs through physico-chemical and biological barrier. His main research interests are: (i) the development and the evaluation of bioadhesive delivery systems and (ii) the conception of pharmaceutically acceptable multifunctionalized nanoparticles (tailored polymers, polypeptides, cyclodextrins, etc) for optimizing the interactions with living matter in the context of targeted applications. One of his specific interest is to gain a better understanding at the molecular level of the relationships between nanoparticles surface properties and their capacities of interacting in the body, through various phenomena including bioadhesion. He is the author of over 130 research papers, more than 170 communications, more than 60 invited lectures, many book chapters and book co-authoring and 14 patents. He has directed 20 PhD students. Prof. Gilles Ponchel is also especially interested in the transfer of innovations to the pharmaceutical industry in the field of drug delivery systems.

### **Joël RICHARD**

Senior Vice President, Peptides - Head of CMC Dreux Site - IPSEN

Dr Joël Richard is currently Senior Vice President, Peptides in IPSEN (France). He is globally leading all the pharmaceutical development activities of both injectable and oral peptide-based products, including APIs and drug products, with major franchises in Oncology, Endocrinology and Neurology. Dr Richard has more than 25 years of experience in chemistry and biopharmaceutical R&D, including several global senior positions in various Biotech and Pharma companies, such as:

- Vice President, Drug Product Development in Ipsen (France) (2008-2011),
- Director, Pharmaceutical Development in Serono and Merck Serono (Italy, Germany) (2005-2008),
- Vice President Research, and Europe R&D Director at Ethypharm (France) (2001-2004),
- COO at Mainelab (France), a drug delivery company he co-founded, which was specialized in developing solvent-free processes for protein delivery systems (1999-2001).

Since 1996, Dr Richard has focused his research activity on new formulation technologies and drug delivery systems (such as microspheres, nanoparticles, nanocapsules, chemically-modified proteins, supercritical fluid technology . . .), especially for injectable peptide and protein formulations. Dr Richard graduated from Ecole Normale Supérieure (Cachan, 1985). He has got a PhD in Materials Science (University of Paris VI, 1987) and "Habilitation à Diriger les Recherches" in Chemistry (University of Bordeaux I, 1994). He has published 64 peer-reviewed scientific papers, 7 book chapters and 2 review editorials in various fields (colloids and interfaces, drug delivery, supercritical fluids, protein formulations, nanoparticles, sustained-release formulations . . .). He is the author of more than 100 international communications and 53 patent families.

### **Marie-Hélène ROPERS**

Marie-Hélène Ropers is researcher at INRA (French National Institute for Agricultural Research), in the research unit Biopolymers Interactions and Assembly (BIA) - located in Nantes. After obtaining her PhD in Physical Chemistry in 2000 (University of Nancy, France), she spent two years in the Max-Planck Institute for Colloids and Interfaces (Germany). Since 2002, she works in the research unit BIA where she applies her skills in the characterization of fluid interfaces to projects dealing with pectins at interfaces, proteins and fluorinated contaminants, interfaces in lipid oxidation and more recently nanoparticles. She passed her habilitation in 2013.

### **Samir SAFI**

Biosciences Innovation Product Specialist, France and Southern European Markets

Samir Safi is a scientist specialized in physical and bioanalytical chemistry. He has graduated at Louis Pasteur University, where he received his masters in analytical chemistry in 2003 and his Ph.D. in bioanalytical chemistry in 2007. In 2008 he became a lecturer of analytical and organic chemistry at Stanford University, remaining there until 2010. In 2010 he was appointed as a research engineer at CEA where he stayed one year and then got recruited by the CNRS as a research associate and remained in office until 2015. Since early 2014 he is also a member of the Soft Matter SOLEIL synchrotron scientific committee.

Dr. Safi's research focused on the area of physical chemistry for microscopic and macroscopic structural characterization and quantitative hyphenated analysis. His research targeted a variety of problems such as metallic immunogens, crosslinking chemistry and the characterization of nuclear toxicology.

As of June 2015 he joined Malvern's biologics development initiative team as a European market innovation products expert. In this role he identifies and develops new technologies and applications for the pharmaceutical biologics industry.

### **Patrick SANTAMBIEN**

Après une formation de biochimiste, le Dr Patrick Santambien a travaillé 18 ans au sein de l'entreprise BioSeptra, dans laquelle il a occupé plusieurs positions qui lui ont permis de se spécialiser dans la purification des protéines, et plus particulièrement par chromatographie liquide. Il a rejoint LFB Biotechnologies en 2008 en tant que responsable de la plateforme BioProcédés Innovants et a pris la Direction de L'Innovation Technologique en juin 2012. Cette direction a pour mission l'évaluation et la mise en œuvre de technologies innovantes dans les domaines de l'expression des protéines, plus particulièrement dans le lait d'animaux transgéniques, de la purification des protéines, de leur formulation et de leurs modes d'administration.

### **Jean-Jacques SNAPPE**

Après des études agronomiques, puis d'industrie et d'économie laitière terminées en 1981, il a pris une orientation professionnelle dans l'industrie des céréales au sein des Grands Moulins de Paris devenu Groupe Nutrixa en 2001.

Plusieurs postes à responsabilité ont été occupés au sein d'unités de production en France puis au siège du Groupe en R&D. Parmi les projets essentiels traité nous avons par exemple celui d'adapter les variétés et origines de blés aux qualités fonctionnelles des farines pour les industries de la panification et de la biscuiterie, également le développement des farines turbo-séparées qui permet d'obtenir une gamme de farines à compositions différenciées pour la biscuiterie et pâtisserie.

Réorientation en industrie laitière en 1990, dans le domaine des ingrédients laitiers fonctionnels en intégrant une entreprise classée parmi les 3 leaders mondiaux des protéines fonctionnelles, Ingredia.

Ses responsabilités ont consisté dans le développement des applications alimentaires et nutritionnelles, qui ont permis de mettre en avant les ingrédients fonctionnels auprès des industriels du monde entier.

Aujourd'hui sa mission est une mission de R&D en particulier sur les protéines : elle consiste dans l'élargissement des gammes de protéines, leur segmentation en fonction des applications et qualités requises.

Parallèlement à ce développement des isolats et concentrats protéiques son action s'étend à l'ensemble des caractérisations analytiques, fonctionnelles et applicatives.

### **Clarisse TOITOT**

Clarisse TOITOT est issue d'une formation universitaire classique, licence master et doctorat, entre les universités de Reims, Lille et l'UTC Compiègne, et est spécialisée dans biotechnologies végétales. En 2005, elle intègre le laboratoire UMR/INRA 1281 « Stress Abiotiques et Différenciation des Végétaux Cultivés » à l'université de Lille 1 (Nouvellement Institut Charles Violette, université Lille 1) où elle travaille sur le séquençage d'une banque de données de lin, puis sur l'acclimatation du pois au froid (Estrées Mons, institut Pasteur de Lille). Elle se spécialise alors dans la technologie de biopuces à ADN (puces à façon et puces à oligonucléotides). En 2009, elle intègre le laboratoire Génie Enzymatique et Cellulaire où elle fait la rencontre du Professeur Daniel Thomas qui lui enseignera les grands principes des biotechnologies et sa vision de la Bioraffinerie. Ainsi, en 2012, elle participe au colloque Adebiotech « Bioraffinerie des sous-produits de l'industrie et de l'environnement » en tant que rédactrice du compte rendu de cet évènement. En 2014, ayant les mêmes centres d'intérêts pour la valorisation des filières biotechnologiques et désirant encourager les actions d'Adebiotech, elle intègre l'Association en tant que Chargée de mission. Sa mission est de créer des liens entre les industriels et académiques pour développer et créer de nouvelles filières dans les biotechnologies.

### **Christophe TRIBET**

Directeur de Recherche CNRS à l'Ecole Normale Supérieure Paris.

Christophe Tribet est actuellement Directeur de Recherche au CNRS et dirige le Pôle de Chimie Biophysique (groupe de 20 personnes) au département Chimie de l'Ecole Normale Supérieure. Après un doctorat à l'Université Paris 6 (UPMC), il s'est intéressé comme post-doctorant dans le Laboratoire de G. Nicolis (Bruxelles) puis P. Joliot et J.L Popot (IBPC, Paris) aux assemblages de macromolécules amphiphiles dans une perspective d'application à la stabilisation de protéines membranaires intégrales. Il a ensuite rejoint l'ESPCI et animé un groupe de physico-chimistes de la matière molle (équipe « interface actives et transfert aux interfaces » travaillant à la stimulation par la lumière de propriétés d'hydrogels et d'émulsions, via l'introduction ad hoc de photochromes organiques. Il conduit depuis 2010 des travaux à l'interface avec la biologie, visant la manipulation/perturbation contrôlée de réponses biologiques par des systèmes macromoléculaires ou colloïdaux.

Centres d'intérêt : Assemblages stimulables de macromolécules, notamment systèmes photo-stimulables ; Interactions entre macromolécules et protéines et/ou membranes lipidiques, pour le déclenchement de perméabilisation de membranes lipidiques, la stabilisation d'anticorps, le contrôle à distance d'adhésion cellulaire.

### **Rémi URBAIN**

Rémi Urbain a été de 2005 à 2015 Directeur des Partenariats Scientifiques du LFB, l'un des 5 grands laboratoires pharmaceutiques français, qui développe, produit et commercialise des médicaments issus des biotechnologies, et notamment des anticorps monoclonaux (1900 personnes, 430 M€ de CA en 2011). ([www.lfb.fr](http://www.lfb.fr))

Ancien élève de l'Ecole Normale Supérieure de Cachan, titulaire d'un DEA de Pharmacologie, Rémi Urbain a effectué toute sa carrière professionnelle en R&D dans l'industrie pharmaceutique depuis 1991. Il a occupé en 20 ans des postes variés de responsabilités croissantes, d'abord chez Rhône-Poulenc Rorer puis à l'Institut de Recherche Pierre Fabre, aussi bien en développement clinique qu'en gestion de projets.

Rémi Urbain est trésorier d'Adebiotech, administrateur du pôle de compétitivité Médecin Paris Région, et membre de la commission « Valorisation » de l'ARIIS.

**Géry VAN VYNCHT**

R&D Director, Strategy & Innovation Department Quality Assistance S.A.

Géry Van Vyncht a réalisé son Master en Sciences Biochimiques et sa thèse de Doctorat en Sciences à l'Université de Liège (B). Il y a travaillé comme chercheur au Centre de Spectrométrie de Masse (Département de Chimie) jusqu'en 1998, où il développait des méthodes GC&LC/MSn de recherche de résidus (hormones,  $\beta$ -agonistes, pesticides, dioxines...) dans les denrées alimentaires d'origine animale.

Il a ensuite effectué un post-doctorat au Centre de Recherche Concertée de la Commission Européenne à Geel (EC-JRC Geel, B) où il a étudié la spéciation des métalloprotéines par LC/MS et LC-ICP/MS.

Il a rejoint Quality Assistance en 2001, tout d'abord en tant qu'analyste R&D, puis R&D Manager, Directeur Scientifique et enfin Directeur Opérationnel en 2010. Il s'est spécialisé dans le développement et la validation de méthodes physico-chimiques (spectrométrie de masse, (U)HPLC, GC, CE, ICP/MS, A4F/MALS ...) de caractérisation et de contrôle (QC et stabilité) des produits (bio)pharmaceutiques.

Depuis 2013, il est Directeur R&D du Département Stratégie & Innovation où il est en charge du développement et de la mise en place de nouvelles lignes de test pour l'étude des produits biopharmaceutiques de pointe tels que les protéines recombinantes, les anticorps conjugués (ADCs) ou encore les produits innovants de thérapie cellulaire.

**Jean-Eudes VENDEVILLE**

Jean-Eudes VENDEVILLE is the Research and Development Director of INNOV'IA through its R&D subsidiary company IDCAPS. INNOV'IA is a Toll manufacturer for powder and new galenics for powders.

INNOV'IA is specialized in Spray drying, Granulation, Agglomeration, Encapsulation and Coating of active components, and Prilling. INNOV'IA own 4 industrial facilities in La Rochelle (France) and in the Centre of France, and a R&D technical center for developments (IDCAPS)

IDCAPS, R&D subsidiary of INNOV'IA, allows our customers full services including laboratory studies, pilot plant small scale developments (1-5 kg), and upscaling to industrial from 20-100kg up to Tons in INNOV'IA's facilities.

Jean-Eudes VENDEVILLE is graduate from the University of Technology Compiègne (UTC) and has been working in development for more than 30 years.

Jean-Eudes Vendeville worked mainly in food ingredients in famous French companies as ROQUETTE Frères (1986-1988) and INGREDIA (1990-2004). Missions were as well in the development of new ingredients as well as in technical assistance with customers to test and improve the use of ingredients. He developed during more than 10 years, new powders for the chocolate industry in Europe or overseas (Canada, US, Asia). Industrial skills were also performed with new production lines for milk proteins within INGREDIA (Suisse 2001-2004)

Skills include all in relation to Spray drying and encapsulation technology, coating, controlled release, but also knowledge in dairy, on separative technologies and in chocolate technologies.

After an experience as Director of a process/product department in a Technical Center, Jean-Eudes VENDEVILLE reaches INNOV'IA in 2006 to manage the R&D team of IDCAPS.

**William VICKERY**

William a rejoint AstraZeneca en Suède en 2015 afin d'y mener des activités de recherche et d'évaluation d'opportunités de licence dans les maladies cardiovasculaires et métaboliques.

William travaille dans l'industrie de la santé depuis 2000. Il a dirigé les activités de business development aussi bien dans des biotechs (Diaxonhit – anciennement ExonHit – puis Hybrigenics à Paris) que dans une grosse société pharmaceutique (Hoffmann La Roche, en Suisse et aux Etats Unis). Durant ce temps il a travaillé sur une grande variété de partenariats et d'accords de licence entre des biotechs et des sociétés de taille moyenne et grande ainsi qu'avec des centres académiques. En 2013-2014, William a dirigé la Business Unit Santé de la SATT idfinnov, office de transfert de technologie basé à Paris. A Diaxonhit il a aussi dirigé l'équipe projet qui a mené l'étude de Phase 2a d'EHT 0202 (candidat médicament contre la maladie d'Alzheimer).

William est diplômé d'un MBA de l'INSEAD et d'un titre d'ingénieur de l'école des Hautes Etudes d'Ingénieur (HEI) de Lille.

**Jean-Pascal ZAMBAUX**

Jean-Pascal Zambaux is 55 years old, he is Doctor of Pharmacy and started functions in the Pharma manufacturing at Roussel – Uclaf, then was one of the very first pharmacists in the sector of pharmaceutical engineering at Cellier then within the Group John Brown.

He has granted the first patents on mixing systems and Bioreactor in single use and brought assistance to ATMI during 4 years for patents and disposable processes to develop their LifeSciences activity.

He created Disposable-lab in 2008, as the only pharmaceutical company for fill & finish of sterile products, designed, built and run with single use technology.



# *Comités*

---

## ***COMITÉ D'ORGANISATION***

**Danielle LANDO, Adebiotech**

**Clarisse TOITOT, Adebiotech**

**William VICKERY, AstraZeneca**

## ***COMITÉ SCIENTIFIQUE***

**Denis CHÉREAU, IMPROVE**

**Patrick COUVREUR, Institut Galien, Univ. Paris Sud**

**Pascal DHULSTER, Institut Charles Viollette**

**Jacques DUMAS, Sanofi**

**Sylvain HUILLE, Sanofi**

**Romain KAPEL, CNRS, Univ. de Lorraine**

**Sylvain PEYRACHE, Accinov**

**Marie-Hélène ROPERS, INRA Nantes**

**Patrick SANTAMBIEN, LFB**

**Jean-Jacques SNAPPE, Ingredia**

**Rémi URBAIN, Adebiotech**

## Liste des Participants

Attila .....	ARANYOS.....	PALL LIFE SCIENCES
Alain .....	ASTIER .....	CHU HENRI MONDOR
Héloïse.....	AUDAT .....	SANOFI R&D
Pierrick.....	AUVRAY .....	C.RIS PHARMA
Françoise .....	BALEUX.....	INSTITUT PASTEUR
Manuel.....	BARATA.....	ROQUETTE
Sylvie .....	BAY .....	INSTITUT PASTEUR
Thierry .....	BELTRAN.....	SANOFI
Hanan.....	BEREFFAS .....	NVH MEDICINAL
Nathalie.....	BEREZINA .....	YNSECT
Perrine .....	BIETH GUEUGNIER .....	LESAFFRE INTERNATIONAL
Laurent Michel.....	BONANNO.....	BIO SPRINGER
Patrick .....	BONNEL.....	HORIBA JOBIN YVON
Fabienne.....	BOSSARD.....	CARGILL R&D CENTRE EU
Daniel.....	BOURDEAUX.....	CHU CLERMONT-FERRAND
Vanessa .....	BOURGEAUX.....	ERYTECH PHARMA
Frank .....	BOURY.....	INSERM UNIVERSITÉ ANGERS
Frédéric.....	BOUVIER.....	ROQUETTE
Patrick .....	BRON.....	CENTRE DE BIOCHIMIE STRUCTURALE
Stéphanie.....	BROT .....	SANOFI
Franz.....	BRUCKERT .....	LMGP
Frédéric.....	CAZALS .....	INRIA
Flavie .....	CHAPUT.....	EUROFINS BIOPHARMA PRODUCT TESTING
Carole .....	CHEMINEL .....	BIO-RAD LABORATORIES
Philip.....	CHENNEL .....	CHU CLERMONT-FERRAND
Denis.....	CHÉREAU .....	IMPROVE
Karim .....	CHOUCHANE .....	LMGP
Didier.....	CLENET .....	SANOFI-PASTEUR
Yves-Marie.....	COIČ .....	INSTITUT PASTEUR
Didier.....	COMBES .....	INSA-LISBP
Jean-Marc.....	CORPART .....	ROQUETTE
Sandra .....	CORTES.....	SYNTHELIS
Patricia .....	COSTAGLIOLI.....	ENSTBB
Patrick .....	COUVREUR.....	UNIVERSITÉ PARIS-SUD
Benoit.....	CUDENNEC.....	INSTITUT CHARLES VIOLLETTE
Jean .....	CUINE .....	STALLERGENES
Typhaine.....	DAGLAND .....	BIO-RAD
Heidi .....	DE BRUIN .....	KRECA ENTO-FOOD BV
Laurent.....	DE GIVRY .....	SEDERMA
Jos .....	DE KEIJZER.....	FREESLATE
Eugène .....	DEBLEU .....	LACTALIS R & D
Gautier .....	DECOCK .....	EUROFINS BIOPHARMA PRODUCT TESTING
Pascal .....	DEGRAEVE.....	LABORATOIRE BIODYMIA
François .....	DELBAERE.....	OLYGOSE
Anne-Laure.....	DERVIN.....	STALLERGENES SA
Mary.....	DESCAMPS .....	COSUCRA
Nicolas.....	DESCAMPS .....	ROQUETTE
Michel.....	DESMADRIL .....	CNRS
Elise .....	DESSAUGE .....	KELIA
Pascal .....	DHULSTER .....	INSTITUT CHARLES VIOLLETTE
Khaled .....	DJAFRI .....	DIR. DES SERVICES AGRICOLES
Jacques.....	DUMAS.....	SANOFI
Gregoire .....	DURAND.....	A3P SERVICES
Guangqi.....	E .....	METAFORA BIOSYSTEMS



Sophie.....	EHRHARDT .....	POLEPHARMA
Abdelnasser.....	EL GHAZOUANI.....	LIPOFABRIK
Luc.....	EVEN .....	SANOFI R&D
Andéol .....	FALCON DE LONGEVIALLE.....	LABORATOIRE GENOPOLE PLANT PROCESS INNOVATION
Christophe .....	FLAHAUT .....	INSTITUT CHARLES VIOLLETTE
Frédéric.....	FLORANCE .....	HORIBA MEDICAL
Michaël.....	FOUCAULT .....	CARGILL
Guillaume .....	FOURRIER.....	BIO-RAD
Thibaut.....	FRACHON .....	LMGP
Benoit.....	FRADIN.....	PALL FOOD & BEVERAGE
Amélie .....	FRIOT-DARDERÈS .....	DBV TECHNOLOGIES
Olivier.....	GALET.....	GROUPE AVRIL
Nicolas.....	GILLES.....	CEA
Jonathan.....	GOODWINS .....	DUPONT
Nicolas.....	GROUX .....	MABDESIGN
Olivier .....	GUAIS .....	ADISSEO CINABIO
Mélanie .....	GUILLEMINAULT .....	DBV TECHNOLOGIES
Nadège.....	HANDKE .....	LFB BIOTECHNOLOGIES
Jean-Luc.....	HENRIOUL .....	DEZYME
Héloïse.....	HENRY .....	UNIVERSITE LILLE 2
Grégory .....	HIDOT.....	PALL FRANCE
Cédric.....	HIS.....	GECCO
Pascal .....	HOUZÉ.....	UNIVERSITÉ RENÉ DESCARTES
Sylvain .....	HUILLE.....	SANOFI
Sébastien .....	IGONET .....	CALIXAR SAS
Tatiana .....	ISABET.....	SYNCHROTRON SOLEIL
Romain .....	KAPEL.....	LRGP
Olivier.....	KERBARH.....	DBV TECHNOLOGIES
Sihame.....	KHOUKH .....	DBV TECHNOLOGIES
Géraldine.....	LAFITTE.....	ADISSEO
Danielle .....	LANDO.....	ADEBIOTECH
Maud.....	LARREGOLA.....	UNIVERSITÉ DE CERGY-PONTOISE
Anne-Sophie .....	LECORPS.....	DUPONT DANISCO FRANCE
Virginie .....	LEDUC .....	ALK
Ophélie .....	LETHUILLIER .....	ADEBIOTECH
Brigitte.....	LINDET.....	ENSTBB
Jasmine.....	LOIRAT .....	SARIA INDUSTRIES
Françoise .....	LUCIANI .....	BIOMERIEUX
André.....	MATAGNE .....	UNIVERSITÉ DE LIÈGE
Thierry .....	MAUGARD.....	UNIVERSITÉ DE LA ROCHELLE
Claudine.....	MAYER.....	INSTITUT PASTEUR
Marie-Claude.....	MENET .....	UNIVERSITÉ RENÉ DESCARTES
Sylvie .....	MERCIER.....	RD-BIOTECH
Julien .....	MERILLON .....	FREESLATE
Christine .....	MERLE .....	PROTEODYNAMICS
Gérard .....	MEUNIER.....	FORMULATION
Nadine.....	MICHOT .....	SANOFI
Nicolas.....	MIGNARD.....	WYATT TECHNOLOGY
Michel.....	MILLARES .....	GECCO
Nathalie.....	MULLER.....	LEADS TO DEVELOPMENT
Audrey.....	MUNOS .....	GROUPE IMT
Dario.....	NERI .....	ETH ZÜRICH
France.....	NORMAND.PLESSIER .....	BIOTECHNOLOGIE FRANCE
Cécile .....	OLIVARIUS.....	BERTIN PHARMA
Géraldine.....	PENARIER .....	SANOFI-AVENTIS R&D
Karine .....	PERON.....	MERCK MILLIPORE
Gérald.....	PERRET.....	LFB BIOTECHNOLOGIES

Thomas.....	PERRIER.....	CARLINA TECHNOLOGIES
Sylvain .....	PEYRACHE .....	ACCINOV
Sophie.....	PLE .....	PX'THERAPEUTICS
Gilles.....	PONCHEL.....	UNIVERSITÉ PARIS-SUD
Agnes.....	POUZET .....	BIO-RAD
Cindy.....	PUYPE.....	SACI-CFPA
Mathilde.....	RADEK .....	NUTRISET
Angelita .....	REBOLLO.....	INSERM/UPMC
Fanny.....	REYNAUD .....	LFB BIOTECHNOLOGIES
Joel .....	RICHARD.....	IPSEN
Vincent .....	RIVERA .....	IDBIOTECH
Richard .....	ROE .....	PIERRE FABRE DERMO COSMETIQUE
Marie-Hélène.....	ROPERS.....	INRA
Stéphane .....	ROUQUETTE.....	MALVERN INSTRUMENTS
Alix.....	ROUSSEAU.....	ARD
Jérôme.....	SABATHIER.....	OCCHIO BIOTECH
Serge .....	SABLE .....	SANOFI
Samir .....	SAFI .....	MALVERN INSTRUMENTS
Nathalie.....	SAFRAOUI.....	ANSM
Pierre.....	SALLE.....	OLYGOSE
Patrick .....	SANTAMBIEN.....	LFB BIOTECHNOLOGIES
Xavier.....	SANTARELLI .....	ENSTBB
Amélie .....	SAUMONNEAU .....	D-ZYME-CAPACITES
Valérie .....	SAUTOU.....	UNIVERSITÉ D'AUVERGNE
Claude .....	SIMON.....	SANOFI WINTHROP INDUSTRIE
Jean-Jacques.....	SNAPPE .....	INGREDIA
Colas.....	SWALUS.....	QUALITY ASSISTANCE S.A.
Lamine.....	TALL.....	REVUE INFOS LUMIERE
Bruno.....	TETART .....	BIOMÉRIEUX
Céline.....	THIZON.....	BIOTECHDEVA
Clarisse .....	TOITOT .....	ADEBIOTECH
Christophe .....	TRIBET .....	CNRS
Rémi .....	URBAIN.....	ADEBIOTECH
Géry.....	VAN VYNCHT .....	QUALITY ASSISTANCE S.A.
Julie .....	VANDENAMEELE .....	UNIVERSITÉ DE LIÈGE
Margaret.....	VARKADOS-LEMARECHAL.....	EXPRESSION BIOTECH
Philippe.....	VASSAULT .....	WATERS
Jean-Eudes.....	VENDEVILLE.....	IDCAPS
Johan .....	VIGUIER.....	SILAB
Gina.....	VILLAMONTE .....	ONIRIS
Francois .....	VILLEVAL.....	BIOMÉRIEUX
Nathalie .....	VOLLMER.....	HORIBA SCIENTIFIC
Anais.....	VUILLEQUEZ .....	OLYGOSE
Marianne.....	WEIDENHAUPT.....	GRENOBLE- INP
Jean Pascal .....	ZAMBAUX.....	HYDRO-FILL SAS
Lionel.....	ZASKE .....	SANOFI
Yasmine .....	ZOUICHA .....	PALL LIFE SCIENCES

# EXPOSANTS



**Malvern**



[www.adebiotech.org/stab/](http://www.adebiotech.org/stab/)