

Colloque Adebiotech

# **Technologies innovantes en séparation industrielle des protéines**

28, 29 et 30 octobre 2013

*Parc Biocitech, Paris-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>
Pierre LEPAGE .....	12
Rémi URBAIN .....	12
Laurice POUVREAU .....	13
David-Alexandre BADAROU .....	13
Pierre SCHELLING .....	14
Michel NOGRÉ .....	14
Jean-Luc SIMON .....	15
Geneviève GÉSAN-GUIZIOU .....	15
Pascal DHULSTER .....	16
Romain KAPEL .....	16
Sylvio BENGIO .....	17
Fabien ROUSSET .....	17
Mark A. SNYDER .....	18
Olivier KITTEN .....	18
Gérald PERRET .....	19
Véronique SOLÉ .....	19
Florence LUTIN .....	20
Camille VIOT .....	21
Sandrine MILÉSI .....	21
Denis CHEREAU .....	22
Paul DE PAUW et Johan GEEROMS .....	23
Aline LECOCQ .....	23
Frédéric SCHAB .....	24
Nicolas MOUZ .....	24
Hervé GINISTY .....	25
Amélie RAVENEAU .....	26
Nicolas DUMEY .....	26
Oliver TRIEBSCHE .....	27
Christian VALENTIN .....	27
Margit HOLZER .....	28
David LASCOUX .....	28
Arnaud VONARBURG .....	29
Jean GUILLERM .....	29
Hélène PORA .....	29
<b>Résumés des posters .....</b>	<b>31</b>
<b>Parcours des intervenants et des membres des comités .....</b>	<b>41</b>
<i>David-Alexandre BADAROU</i> .....	41
<i>Sylvio BENGIO</i> .....	41

<i>Denis CHÉREAU</i> .....	41
<i>Paul COLONNA</i> .....	42
<i>Philippe DE BRAECKELAER</i> .....	42
<i>Paul DE PAUW</i> .....	42
<i>Pascal DHULSTER</i> .....	42
<i>Jacques DUMAS</i> .....	43
<i>Nicolas DUMEY</i> .....	43
<i>Johan GERROMS</i> .....	43
<i>Geneviève GÉSAN-GUIZIOU</i> .....	43
<i>Hervé GINISTY</i> .....	44
<i>Jean GUILLERM</i> .....	44
<i>Margit HOLZER</i> .....	44
<i>Olivier KITTEN</i> .....	44
<i>Danielle LANDO</i> .....	44
<i>David LASCOUX</i> .....	45
<i>Aline LECOCQ</i> .....	45
<i>Pierre LEPAGE</i> .....	45
<i>Florence LUTIN</i> .....	45
<i>Nathalie MANAUD</i> .....	46
<i>Sandrine MILESI</i> .....	46
<i>Vincent MONCHOIS</i> .....	46
<i>Nicolas MOUZ</i> .....	46
<i>Michel NOGRÉ</i> .....	47
<i>Gérald PERRET</i> .....	47
<i>Hélène PORA</i> .....	47
<i>Laurice POUVREAU</i> .....	47
<i>Amélie RAVENEAU</i> .....	47
<i>Fabien ROUSSET</i> .....	48
<i>Xavier SANTARELLI</i> .....	48
<i>Frédéric SCHAB</i> .....	48
<i>Pierre SCHELLING</i> .....	48
<i>Jean-Luc SIMON</i> .....	49
<i>Mark SNYDER</i> .....	49
<i>Véronique SOLÉ</i> .....	50
<i>Oliver TRIEBSCH</i> .....	50
<i>Rémi URBAIN</i> .....	50
<i>Christian VALENTIN</i> .....	50
<i>Camille VIOT</i> .....	51
<i>Arnaud VONARBURG</i> .....	51
<i>Yasmine ZOUICHA</i> .....	51
<b>Sponsors</b> .....	<b>53</b>
eKope .....	55
LFB Biotechnologies .....	57
NOVASEP .....	59
PALL LIFE SCIENCES.....	61
TEREOS SYRAL .....	63
<b>Stands</b> .....	<b>64</b>
<b>Liste des Participants</b> .....	<b>65</b>



## **Technologies innovantes en séparation industrielle des protéines**

L'association Adebiotech a pour mission, par l'organisation de colloques et de rencontres, de valoriser les biotechnologies en intervenant de manière transversale dans tous ses champs d'application afin de rassembler les acteurs académiques et industriels pour les fédérer et favoriser le développement de la filière.

Le colloque INNOVATION-PROTEINES-PROD s'inscrit dans cette démarche. Il a pour objectif, autour d'un thème central, la purification des protéines, de favoriser les synergies entre acteurs de secteurs industriels habituellement disjoints, les industries biopharmaceutiques et agro-alimentaires, de faire état des innovations récentes en matière d'extraction et de purification des protéines et de promouvoir les acteurs du domaine.

Cet événement a pu s'organiser grâce à la collaboration enthousiaste et fructueuse des membres du Comité d'Organisation et du Comité Scientifique, que nous remercions vivement.

Nous sommes reconnaissants aux entreprises qui nous apportent leur soutien à l'organisation de ce colloque : eKope, LFB Biotechnologies, Novasep, Pall Life Sciences et Tereos Syral, ainsi que Pharma Biot'Expert. Nous remercions celles qui ont pris des stands pour faciliter les échanges : 3M, Bio-Rad, eKope, Pall Life Sciences, Sartorius Stedim Biotech et Wyatt Technology France.

Nous adressons également nos remerciements aux intervenants et aux organisateurs de sessions et de tables rondes pour leur contribution très précieuse.

Nous remercions les soutiens constants de Biocitech, Sup'Biotech et du Conseil Général de la Seine-Saint-Denis.

Nous souhaitons à tous les participants un excellent colloque et de fructueuses discussions.

Rémi Urbain, Président,  
Danielle Lando, Vice-Présidente,  
ADEBIOTECH

## Programme détaillé

Lundi 28 octobre 2013 – après-midi

---

13h00 Accueil café

13h30 **INTRODUCTION**

Rémi URBAIN, Président d'Adebiotech, LFB Biotechnologies

13h45 **ENJEUX TECHNIQUES ET ÉCONOMIQUES DU DOWNSTREAM PROCESSING**

Pierre LEPAGE

14h15 **ÉTAT DES LIEUX 14h15–15h30**

Modérateur : Rémi URBAIN, Président d'Adebiotech, LFB Biotechnologies

- État des lieux en Europe
  - 14h15 Produits de santé humaine  
Rémi URBAIN, Président d'Adebiotech, LFB Biotechnologies
  - 14h30 Protéines d'origine animale et végétale : de l'extraction à l'application  
Laurice POUVREAU, Responsable projets Département Flaveur/Texture, NIZO
- 15h00 Capacités de production et de purification de protéines en France  
David-Alexandre BADAROU, Ingénieur Projet en Biotechnologie, PHARMA BIOT'EXPERT
- 15h15 Discussion

15h30 Pause café / Posters / Exposition

## **SESSION 1 : EXTRACTION ET CLARIFICATION 16h00–18h45**

---

*Modérateur : Sylvio BENGIO, Responsable of scientific communications and biochromatography development, Pall Life Sciences*

### **A/ Technologies Membranaires innovantes 16h15–17h25**

*3 M, Pierre-Emmanuel POIZAT*

*Bio-Rad, Laurence TALBOT*

*eKope, Abdel KHADIR*

*Novasep, Vincent MONCHOIS*

*Pall Life Sciences, Francis EDOUARD*

*Sartorius Stedim Biotech, Philippe LANCIAL*

*Wyatt Technology France, Nicolas MIGNARD*

*Chaque société présentera ses développements récents et innovants en la matière.*

### **B/ Applications 17h30–19h00**

*17h30 Prétraitement et clarification sur filtres en profondeur*

*Pierre SCHELLING, Process Development Scientist Manager, Merck Millipore*

*17h45 Clarification des laits d'animaux transgéniques*

*Michel NOGRÉ, LFB Biotechnologies/rEVO Biologics*

*18h00 Problèmes posés par l'extraction industrielle des protéines du lait en vue de valoriser leurs fonctionnalités alimentaires*

*Jean-Luc SIMON, Directeur R & D, Ingredia*

*18h15 Fractionnement des protéines laitières : attentes et verrous technologiques*

*Geneviève GÉSAN-GUIZIOU, Directrice de recherche, INRA Rennes*

*18h30 Stratégie de purification de fractions foliaires contenant des protéines végétales*

*Pascal DHULSTER, Directeur, ProBioGEM Lille*

*18h45 La fraction albumine des protéines de tourteau de colza: optimisation multicritère de l'extraction et production de produits à différents grades de pureté*

*Romain KAPEL, LRGP Nancy*

*19h00 Cocktail*

8h30 Accueil café

## SESSION 2 : PURIFICATION 9h00–18h00

---

### A/ Technologies chromatographiques innovantes 9h00–10h45

Modérateur : Xavier SANTARELLI, Professeur des Universités, ENSTBB-IPB / SBCN

9h00 Criblage à haut débit des supports chromatographiques : Étude de cas sur fragments d'anticorps  
Sylvio BENGIO, Responsible of scientific communications and biochromatography development, Pall Life Sciences

9h15 BioSc(R): la chromatographie multi-colonnes séquentielle  
Fabien ROUSSET, Directeur adjoint, responsable des technologies, Novasep

9h30 Mixed-mode chromatography for the purification of challenging biomolecules  
Mark A. SNYDER, Process R&D Applications Group, Bio-Rad

9h45 Les Nanofitines, protéines d'affinité pour la capture à façon  
Olivier KITTEN, Président, Affilogic

10h00 Nouvelle classe de ligands d'affinité : les aptamères  
Gérald PERRET, LFB Biotechnologies  
Mohamed OUHAMMOUCH, Inserm

10h15 Discussion Générale

10h45 Pause café / Posters / Exposition

### B/ Applications 11h15–12h30

Modérateur : Pascal DHULSTER, Directeur, ProBioGEM Lille

11h15 Fractionnement des protéines végétales, spécificité, principes et limites  
Véronique SOLÉ, Ingénieur d'études, Responsable du plateau Purification de protéines, INRA Nantes

11h30 Technologies membranaires et d'échanges d'ions dans les procédés de purification des protéines laitières et végétales  
Florence LUTIN, Directrice R&D, Eurodia Industrie

11h45 Electro dialyse membranaire : vers de nouvelles applications  
Camille VIOT, Responsable de Projets, CVG

12h00 Pré-traitement des matières premières par eau subcritique pour une meilleure valorisation des protéines végétales  
Sandrine MILÉSI, Directrice Scientifique, Plateforme Purifunction

12h15 La valorisation des protéines végétales : que va apporter IMPROVE ?  
Denis CHEREAU, Directeur, Plateforme IMPROVE

12h30 Déjeuner/Bufferet

## **C/ Industrialisation des procédés de purification 14h30–16h20**

Modérateur : *David-Alexandre BADAROU, Ingénieur Projet en Biotechnologie, PHARMA BIOT'EXPERT*

14h30 Processing cereals proteins: versatile raw materials

*Paul DE PAUW, Directeur commercial Protéines, Tereos Syral et Johan GEEROMS, Directeur du service new process developments, Tereos Syral*

14h50 Extraction de la bêta-amylase à partir de plante amidonnière

*Aline LECOCQ, Ingénieur procédés, Roquette Frères*

15h10 Purification de protéines : de l'innovation à la mise en œuvre industrielle

*Frédéric SCHAB, Chef de projet R&D, Novasep*

15h30 Stratégies de purification des anticorps monoclonaux : approches par plateforme

*Nicolas MOUZ, Directeur scientifique, PX'Therapeutics*

15h45 Purification d'IgM recombinants produits en cellules CHO-Xpress

*Hervé GINISTY, Directeur scientifique, GTP Technology*

16h00 Table Ronde

Animateurs : *Patrick SANTAMBIEN, Directeur de l'Innovation Technologique, LFB Biotechnologies, François LAWNY, Senior Consultant, VP Biotechnology, Triskel Integrated Services*

*Avec la participation des intervenants de la session.*

16h30 *Pause café / Posters / Exposition*

## **D/ Polishing et Sécurisation 17h00–18h10**

Modérateur : *Nicolas DUMEY, Directeur des Opération Sécurité Virale, Texcell*

17h00 L'élimination de contaminants par chromatographie sur membrane : état des lieux, applications clés et innovations

*Amélie RAVENEAU, Virus & Contaminant removal Project manager, Sartorius Stedim Biotech*

17h20 Sécurité virale des médicaments d'origine biologique (Viral safety of biopharmaceuticals)

*Nicolas DUMEY, Directeur des Opération Sécurité Virale, Texcell*

17h40 Membranes Chromatography and Filtration for Virus Clearance

*Oliver TRIEBSCH, Director Global Market Management, Pall GmbH*

8h30 Accueil café

---

**SESSION 3 : Quality by Design et PAT (process analytical technologies) 9h00–10h45**

---

Modérateur : Denis CHÉREAU, Directeur, Plateforme IMPROVE

9h00 Concept du Quality by Design appliqué aux produits de biotechnologie  
Christian VALENTIN, Directeur adjoint exécutif R&D des Bioprocédés, Sanofi Pasteur

9h45 Relevance du PAT dans les procédés industriels de purification de biopharmaceutiques  
Margit HOLZER, Directeur Scientifique, Ulysse Consulting

10h05 Caractérisation des protéines thérapeutiques, transfert de méthodes sur des systèmes PAT  
David LASCoux, Business Development Manager Biopharmaceutical and Proteomic Market – Southern Europe, Waters

10h25 Applications of FortéBIO Systems in Downstream and GMP Environments  
Arnaud VONARBURG, Field Application Scientist, FortéBIO, Division de Pall Life Sciences

10h45 Pause café / Posters / Exposition

---

**SESSION 4 : Procédés à usage unique 11h15–12h35**

---

Modérateur : Vincent MONCHOIS, Directeur R&D, Novasep

11h15 Introduction : Sarah HANNANE et David-Alexandre BADAROU, PHARMA BIOT'EXPERT

11h35 Solutions pour minimiser les coûts de développement et de production  
Jean GUILLERM, Biopharma Process Expert, Novasep

11h55 Aspects réglementaires et environnementaux de l'usage unique  
Hélène PORA, Pall Life Sciences

---

**TABLE RONDE : Économie des procédés : traditionnels vs innovants 12h15-12h35**

---

Animateurs : Vincent MONCHOIS, Directeur R&D, Novasep, Philippe de BRAECKELAER, Directeur Général Adjoint, CVG

Avec la participation de Jacques DUMAS, Head of Protein Biotherapeutics, Sanofi, Margit HOLZER, Directeur Scientifique, Ulysse Consulting, Paul COLONNA, Directeur Scientifique Adjoint Nourriture, Nutrition et Bioéconomie, INRA Nantes

---

**PERSPECTIVES 12h35–13h05**

---

12h35 Protéines pour la santé, Nathalie MANAUD, Adjointe au Directeur, Alliance Aviesan, Institut thématique multi-organisme Technologies pour la santé

12h50 Protéines agro-alimentaires et chimie verte, Paul COLONNA, Directeur Scientifique Adjoint Nourriture, Nutrition et Bioeconomy, INRA Nantes

13h05 **CONCLUSION**

13h10–15h00 Déjeuner/Bufferet et discussions autour des posters et de l'exposition

## *Résumés des Conférences*

### **Pierre LEPAGE**

L'industrie des biotechnologies est en pleine croissance. Bien qu'il y ait un fort développement dans le domaine des bioénergies, de l'agriculture, et de l'alimentaire, le secteur de la santé humaine est prépondérant. Au cours de ces dernières années sont apparus des nouveaux challenges dus à la nécessité de produire en grandes quantités des protéines thérapeutiques, tels que les anticorps monoclonaux. Combinés à la pression réglementaire, la réduction des coûts de santé, une main d'œuvre meilleur marché dans les pays asiatiques, ces nouveaux besoins ont amené à repenser l'outil industriel en termes de productivité, de coût et d'efficacité. L'effort a porté en premier sur le développement de nouvelles lignées cellulaires, la sélection des clones et le développement de milieu de culture qui permettent d'atteindre des taux de productivités supérieurs à 10 g/l de protéines recombinantes dans les fermenteurs. Ces taux de productions ont amené à rechercher des solutions innovantes pour la purification. En effet, une montée en capacité ne peut être viable économiquement par un redimensionnement des équipements et donc une augmentation d'échelle. Pour leur part, les industriels se sont penchés sur l'adaptation de solutions technologiques simples utilisées dans l'industrie chimique (cristallisation, précipitation,..), ainsi qu'une rationalisation et une optimisation des procédés existants par l'utilisation de l'approche par « quality by Design » et l'utilisation de plans d'expériences (DoE – Design of Experiments). De leur côté, les fournisseurs d'équipements DSP se sont focalisé sur des innovations technologiques portant sur la capacité et l'efficacité opérationnelle des consommables (résines, filtres), mais également sur l'équipement dans un souci de créer plus de flexibilité et une réduction des coûts de main d'œuvre, tel que par exemple l'introduction de matériel jetable. Après une introduction sur les besoins et enjeux économique de la biotechnologie, la présentation fera une revue des innovations les plus prometteuses pour la purification des protéines. S'ensuivront les perspectives d'avenir et les questions qui devront être posées pour répondre aux besoins des industriels.

## PRODUITS DE SANTÉ HUMAINE

---

**Rémi URBAIN** - *LFB Biotechnologies*

*Résumé non parvenu à la date d'impression du livret*

## PROTÉINES DANS L'ALIMENTATION : DU SOUS-PRODUIT AUX PROTÉINES FONCTIONNELLES

---

**Laurice POUVREAU** - *NIZO food research, PO Box 20, 6710 BA Ede, The Netherlands*

La sécurité alimentaire, particulièrement la sécurité alimentaire des protéines, est un des majeurs problèmes, aujourd'hui et dans un avenir prochain. Comment nourrir le monde avec de la nourriture de haute valeur nutritionnelle, avec un impact minimum sur les ressources naturelles comme l'utilisation de la terre et l'écologie? Durant cette présentation, exemples de l'extraction de protéines à partir de différentes sources et de leur optimisation seront donnés.

NIZO food research a été créée il y a plus de 60 ans par un consortium de toutes les industries laitières présentes aux Pays-Bas. C'est pourquoi NIZO a beaucoup d'expérience dans la caractérisation et la séparation des protéines présentes dans le lait. Exemples de l'optimisation de l'extraction et la valorisation des protéines laitières seront présentés.

Dans les 10-15 dernières années, NIZO focus a été dans l'extraction de protéines hautement fonctionnelles à partir de sources sous-utilisées et des sous-produits de l'industrie alimentaire.

Les protéines de plantes sont de plus en plus utilisées pour plusieurs raisons: 'sustainability' et possible pénurie de protéines due à une augmentation de la population mondiale. Cependant, les protéines de plantes ont en général des propriétés fonctionnelles limitées due principalement à une faible solubilité. RuBisCO, la protéine la plus abondante au monde, a un bon profil en acides aminés pour l'application alimentaire et cela a attiré notre attention. Plantes vertes, comme épinards, feuilles de betterave sucrières, micro-algues et lucerne peuvent produire plus de protéines per m<sup>2</sup> que e.g. soja et autres graines. En plus, feuilles vertes sont disponibles comme sous-produits de l'industrie alimentaire. Cependant application dans la nourriture est minimale à cause de bioraffinerie et application: couleurs vertes et faible solubilité.

Dans notre présentation, les tendances dans la valorisation des protéines et le développement de la bioraffinerie des protéines à partir de sources sous-utilisées à ce moment.

## CAPACITÉS DE PRODUCTION ET DE PURIFICATION DE PROTÉINES EN FRANCE

---

**David-Alexandre BADAROU** - *Pharma Biot'Expert*

Alors que les productions chimiques laissent peu à peu leur place aux productions biologiques, la France voit apparaître un tissu de sites de bioproduction important.

Dans le domaine pharmaceutique, on compte à l'heure actuelle plus de 130 sites de bioproduction dont  $\frac{3}{4}$  sont des sites de laboratoires et  $\frac{1}{4}$  des sites de sous-traitants. Cela dépasse les autres domaines tels que l'agroalimentaire, le cosmétique ou encore l'environnement. Cependant, le nombre de sites de production tend à croître et cela dans tous les domaines confondus. En effet, plusieurs grandes entreprises prévoient des projets d'extension et d'augmentation de capacité de production comme Sanofi, Sanofi Pasteur, Soufflet, GTP Technology, Px Therapeutics, L'oreal...

Les petites et moyennes entreprises sont quant à elles en période de stagnation. Ce phénomène reflète l'environnement industriel français, qui est caractérisé par une forte hétérogénéité sur la

capacité et le nombre de sites de production des différents acteurs.

La purification de protéines, quant à elle, fait partie des étapes industrielles qui sont très souvent sous-traitées. L'aspect économique et temporel de cette technique tend à restreindre son application en interne. Cela explique l'engouement des fournisseurs qui voient en cette étape incontournable un nouveau marché à développer et à conquérir.

## NOUVELLES APPROCHES DE PRÉTRAITEMENT ET CLARIFICATION DES CULTURES CELLULAIRES A HAUTE DENSITÉ

---

**Pierre SCHELLING** - *Merck Millipore*

Les cultures de cellules de mammifères utilisées pour la production de protéines recombinantes et d'anticorps monoclonaux ont augmenté en productivité. Bien que présageant de volumes de lots plus petits, cette productivité en hausse s'accompagne souvent d'une augmentation notable de la densité cellulaire (parfois de l'ordre de  $20 \cdot 10^6$  cellules/ml). Face à l'augmentation de biomasse, certains schémas de clarification, notamment les filtres en profondeur traditionnels, démontrent une réduction significative de performance.

Dans ce contexte, des méthodes de prétraitement de culture cellulaire par précipitation ou par l'ajout d'agent flocculant sont de plus en plus souvent évaluées. Celles-ci permettent de modifier la proportion et la distribution de taille des particules solides en suspension afin de faciliter la clarification. Afin de répondre à cette demande, le développement de filtres en profondeur adaptés s'avère nécessaire.

Dans ce contexte, Merck Millipore a développé une gamme de trois filtres en profondeur pour la clarification de cultures cellulaires à haute densité précipitées à l'acide ou traitées par l'ajout d'agent flocculant.

La gamme Clarisolve™ est complétée par la commercialisation d'un agent flocculant polycationique pour application biopharmaceutique, le pDADMAC.

Les résultats expérimentaux sur cultures cellulaires prétraitées, par précipitation acide ou par ajout d'agent de floculation (pDADMAC ou autre), démontrent que ces filtres en profondeur offrent une alternative performante de clarification à usage unique pour les cultures cellulaires à haute densité.

## CLARIFICATION DES LAITS D'ANIMAUX TRANSGÉNIQUES

---

**Michel NOGRÉ** - *LFB Biotechnologies en collaboration avec rEVO Biologics*

La glande mammaire des animaux transgéniques constitue un véritable bioréacteur pour la production de protéines humaines recombinantes à visée thérapeutique. Le lait ainsi produit devient donc une matière source pour l'industrie pharmaceutique. Le choix de l'animal est un compromis entre la capacité à produire des protéines fonctionnelles bien tolérées, et l'industrialisation du processus de traitement du lait (Upstream). La clarification du lait telle que pratiquée dans l'industrie laitière répond difficilement à ces problématiques dès lors que la protéine cible est à la fois sensible aux procédés thermiques, enzymatiques ou chimiques. L'exemple du facteur VII de la coagulation

nous a amené à développer une technique adaptée aux faibles volumes (<500L), par déstabilisation de la structure phosphocalcique du lait. Ce procédé permet l'obtention rapide d'une matière première de qualité pharmaceutique, i.e. filtrable au seuil de 0.2µm, à haut rendement d'extraction, et conservant les qualités fonctionnelles des protéines de la coagulation. Dès la conception du procédé, l'intégration des technologies à usage unique (disposable) a été prise en compte pour cette clarification.

## PROBLÈMES POSÉS PAR L'EXTRACTION INDUSTRIELLE DES PROTÉINES DU LAIT EN VUE DE VALORISER LEURS FONCTIONNALITÉS ALIMENTAIRES

---

**Jean-Luc SIMON** - *Ingredia*

Après avoir présenté sommairement la Société INGREDIA, leader de la production industrielle de protéines issues du lait, Jean Luc SIMON aborde 3 problèmes relatifs à la production d'ingrédients laitiers par cracking.

L'arrivée en continu d'importantes quantités de lait à traiter et à commercialiser, la valorisation des co-produits générés inhérents au métier du fractionnement et la maîtrise de l'influence des conditions opératoires du procédé de cracking sur les propriétés fonctionnelles des ingrédients obtenus sont 3 obstacles majeurs que l'industriel doit franchir.

## FRACTIONNEMENT DES PROTÉINES LAITIÈRES : VERROUS SCIENTIFIQUES ET TECHNOLOGIQUES

---

**Geneviève GÉSAN-GUIZIOU** - *UMR 1253 STLO INRA-Agrocampus Ouest, Rennes France*

Compte tenu de la forte compétitivité industrielle et des enjeux environnementaux et réglementaires actuels, l'industrie laitière, comme toutes les industries agro-alimentaires est amenée à diversifier ses produits et développer des modes de production plus performants et plus respectueux de l'environnement. Dans ce domaine, les opérations de séparation par membrane offre des potentialités de fractionnement des protéines laitières intéressantes pour le secteur. Les études récentes montrent cependant qu'un certain nombre de verrous doivent être levés pour pouvoir concevoir des procédés répondant à des critères aussi bien de qualité/fonctionnalités des produits que d'acceptabilités économique et environnementale. Cette présentation fera une analyse des différents verrous identifiés, en les illustrant au travers d'exemples et présentera les différentes questions de recherche qui en découlent. Au niveau de l'opération unitaire, on abordera en particulier les verrous liés :

- à la membrane (nettoyage, vieillissement des matériaux polymères) ;
- aux relations procédés-produits (en quoi le procédé affecte les propriétés des fractions obtenues ? et vice-versa, en quoi des modifications du produit affectent le fonctionnement de la séparation ? comment représenter et/ou modéliser l'impact des variables d'état et de contrôle du procédé sur les performances de l'opération ?) ;
- et au produit (quel est le comportement des molécules/protéines en milieu confiné, sous contrainte ?).

Au niveau du procédé, la gestion des co-produits et effluents reste une difficulté majeure dans la conception industrielle globale. Les méthodes d'optimisation permettant d'identifier les agencements d'opérations unitaires les plus performants et de définir les paramètres opératoires optimaux doivent être développées pour garantir un positionnement favorable des technologies à membranes par rapport, aux techniques chromatographiques d'échange d'ions qui font souvent figure de référence dans le domaine du fractionnement de protéines.

## **STRATÉGIE DE PURIFICATION DE FRACTIONS FOLIAIRES CONTENANT DES PROTÉINES VÉGÉTALES**

---

**Pascal DHULSTER** - *Laboratoire ProBioGEM, Université Lille 1*

Ce travail concerne l'extraction et la purification de protéines blanches contenues dans un jus industriel de luzerne. Le PX, un concentré de protéines vertes de Luzerne, vient d'être autorisé en alimentation humaine. Les protéines blanches, autre constituant protéique d'un jus de luzerne, pourraient très rapidement obtenir les autorisations pour une valorisation dans le domaine de l'alimentation humaine et constituer une source protéique importante en alternative aux protéines animales. Parmi ces protéines blanches la « Rubisco » est largement majoritaire et de par sa composition, sa structure et sa conformation peut revendiquer des propriétés nutritionnelles et fonctionnelles très intéressantes. Toutefois comme pour la plupart des protéines foliaires la problématique technologique est la perte de solubilité lors de leurs extractions et leurs purifications essentiellement dû au procédé et à la présence de composés phénoliques.

Dans ce projet en collaboration avec un industriel nous travaillerons à partir d'un jus brun préparé à l'échelle semi industrielle avec un souci permanent de préserver les qualités des protéines et de chercher des voies de valorisation pour l'ensemble des produits. Ce jus brun pouvant être considéré ici comme un coproduit de la fabrication d'un concentré de protéines vertes à partir d'un jus de pressage de luzerne.

La présente étude se propose de mettre au point un procédé d'extraction et de purification de ces protéines à l'échelle pilote à partir d'un jus « brun » et ceci en deux étapes. La première étape consiste en une concentration par ultrafiltration/diafiltration. A l'issue de cette étape, un facteur de concentration de 3 a été obtenu pour les protéines blanches avec une transmission de 86% pour les polyphénols et un taux de déminéralisation de 98%. La deuxième étape est celle d'une purification des protéines par élimination des impuretés notamment les polyphénols. Deux techniques séparatives ont été explorées : la chromatographie d'exclusion stérique et l'adsorption.

## **LA FRACTION ALBUMINE DES PROTÉINES DE TOURTEAU DE COLZA : OPTIMISATION MULTICRITÈRE DE L'EXTRACTION ET PRODUCTION DE PRODUITS A DIFFÉRENTS GRADES DE PURETÉ**

---

**Romain KAPEL** - *LRGP Nancy*

La production d'isolats protéiques à partir de tourteaux d'origine végétale nécessite la mise en œuvre d'une première étape d'extraction solide/liquide. Cette opération présente à la fois de nombreuses conditions opératoires et de nombreux critères de performances, souvent antagonistes.

Ceci se traduit par une grande difficulté à optimiser de ce type d'opération unitaire.

Le travail présenté propose une méthodologie originale d'optimisation multicritère appliquée à l'extraction sélective de la fraction albumine d'un tourteau de colza industriel. Cette méthodologie couple (i) une modélisation polynomiale de l'effet du pH d'extraction, du ratio solide/liquide, de la température et de la durée d'extraction (paramètres) sur la concentration de protéines extraites, la pureté en protéines, le rendement d'extraction, la complexations polyphénolique (critères) à (ii) un algorithme génético-évolutive (AGE) de génie décisionnel. Dans notre cas, le meilleur compromis calculé est : pH 2, T =57 °C, ratio S/L de 13 % (m/m) et durée de 15 minutes. Dans ces conditions, une concentration en albumine de 2,5 g.L-1 est obtenue, la pureté sur la matière sèche de l'extrait est de 10 % et la productivité de l'opération est de 1,3 mg de protéines extraite par gramme de tourteau sec et par minute. Les conditions opératoires n'affectent pas l'association polyphenols-protéines observée. Ces résultats calculés ont été validés expérimentalement. Par ailleurs, une étude en dichroïsme circulaire et fluorescence indique que la structure des protéines extraites est très proche des protéines natives.

## SCREENING A HAUT DÉBIT DE SUPPORTS CHROMATOGRAPHIQUES – APPLICATION AUX FRAGMENTS D'ANTICORPS

---

**Sylvio BENGIO** - *Pall Life Sciences*

Le choix du « meilleur » support de chromatographie adapté à la résolution d'un problème particulier de purification protéique dépend de multiples facteurs et est critique pour la viabilité industrielle d'un procédé, et plus largement la destinée « commerciale » d'une nouvelle biomolécule d'intérêt thérapeutique. La diversité des modes de séparations (échange d'ions, mode mixte, affinité...) et des sélectivités des supports chromatographiques potentiellement utilisables ne permettent pas un criblage exhaustif utilisant les méthodes conventionnelles sur colonnes. L'exposé présentera une approche de criblage à haut débit de résines chromatographiques en microplaques, associant une plateforme robotique et des outils analytiques puissants. Une étude de cas sur le développement rapide d'un procédé de purification d'un fragment d'anticorps en trois étapes sera discutée.

## BIOSC(R) SEQUENTIAL MULTI-COLUMN CHROMATOGRAPHY

---

**Fabien ROUSSET** - *Novasep*

Continuous purification processes are well established in petrol, food, small molecule and antibiotic applications where cost of goods is critical. The Sequential Multi-Column Chromatography (SMCC), which is a continuous purification technology, can double purification productivity and reduce significantly buffer consumption and cost of goods. Basics of SMCC, and a detailed explanation of SMCC will be given along with evaluation of impact on cost of goods.

## MIXED-MODE CHROMATOGRAPHY FOR THE PURIFICATION OF CHALLENGING BIOMOLECULES

---

**Mark A. SNYDER** - *Bio-Rad*

For proteins other than antibodies, the lack of affinity capture methods often leaves a substantial burden on each subsequent step in the downstream purification process. As such, new chromatographic media and methods are needed to effectively and economically purify non-mAb molecules. We have used a novel hydrophobic cation exchange mixed-mode media to purify a variety of recombinant proteins under gentle conditions with minimal feedstream manipulation.

This presentation will illustrate the types of orthogonal interactions involved in cationic-hydrophobic mixed-mode techniques, as well as working strategies for robust method development and optimization. The advantages of using such new chromatography media will be demonstrated by case study examples, which include efficient capture of target protein from expression culture, the removal of process impurities, and the separation of closely related species, such as product degradation fragments and high molecular weight aggregates.

## NANOFITINES EN CHROMATOGRAPHIE D’AFFINITE : AU-DELA DES ANTICORPS.

---

**Olivier KITTEN** - *Affilogic*

Au-delà des colonnes de Protéine A pour la purification d’anticorps, l’usage industriel de la chromatographie d’affinité est très limité, essentiellement du fait du manque de ligands adéquats disponibles. Il est en effet nécessaire de disposer d’outils présentant un profil d’affinité compatible avec la capture mais aussi l’élution dans des conditions maintenant l’intégrité de la cible, une capacité à résister à la régénération pour un usage répété, pour un coût acceptable dans un process industriel.

Les Nanofitines sont une nouvelle génération de petites protéines d’affinité hyperstables et utilisables dans de nombreux champs d’application, dont la capture de macromolécules. Elles sont naturellement résistantes à une gamme très large de pH, à de hautes températures, et aux protéases. Elles peuvent être mises au point à façon en quelques semaines et produites par simple fermentation bactérienne. Leurs performances sont équivalentes à la Protéine A pour des cibles anticorps ou non-anticorps et présentent un profil de safety très favorable. Enfin, leur conjugaison à différents media est rendue très simple par la disponibilité des fonctions nécessaires à la chimie de couplage.

Au-delà du simple binding, le procédé de mise au point des Nanofitines permet de prendre en compte les conditions d’élution envisagées. Elles répondent ainsi à des cahiers des charges qui peuvent être complexes, pour des cibles variées (virus, peptides, protéines, anticorps, cellules, ...)et avec un temps de génération court.

## DNA APTAMERS: POWERFUL AND INNOVATIVE LIGANDS IN AFFINITY CHROMATOGRAPHY

---

**Gérald PERRET** - *LFB Biotechnologies*, **Mohamed OUHAMMOUCH** - *Inserm*

Aptamers are single-stranded DNA or RNA oligonucleotides generated through SELEX (Systematic Evolution of Ligands by Exponential enrichment)<sup>1, 2</sup>, an iterative process during which consecutive rounds of *in vitro* selection and amplification enable the isolation, from highly diverse combinatorial libraries of synthetic oligonucleotides (10<sup>14</sup>-10<sup>15</sup> different molecules), of specific sequences owing to their affinity for a given target. They can fold into three-dimensional shapes and bind their target molecules with high affinity (often in the low nanomolar to picomolar range) and high specificity through a combination of interactions (hydrogen bonding, Van der Waals forces, electrostatic and/or hydrophobic interactions). Through various selection/counter-selection schemes, the SELEX process can be fine-tuned as to generate aptamers directed against a given region of the target, with specific binding properties (kinetic parameters), and under different buffer and ionic strength conditions.

As affinity ligands, DNA aptamers combine the advantages of functional ligands such as antibodies to those of chemical ligands such as dyes or biomimetics. Once selected, they can be produced readily by chemical synthesis, at moderate and ever decreasing cost, with fewer or none of the batch-to-batch variations seen with antibodies.

Here, we show that in a single step, immobilized aptamers enable the isolation from complex biological solutions of highly purified proteins and can subsequently withstand repeated harsh regeneration/sanitization cycles without any loss of performance. In addition, through the development of an effective and industrially-compatible grafting methodology that yields high levels of aptamer immobilization on an activated matrix, we have overcome one of the major hurdles hampering the introduction of aptamer affinity ligands into industrial scale separation processes. As part of our Aptapure™ technology venture<sup>3</sup>, we have developed DNA aptamers against various human proteins, and are applying the resulting affinity media to their purification from plasma, as well as other crude biological media such as cell-culture supernatants or milk from human protein-producing transgenic animals.

This innovative platform technology paves the way for the development of a new generation of affinity technologies that could potentially help in the debottlenecking of downstream processing.

1 Tuerk C, Gold L (1990) Systematic evolution of ligands by exponential enrichment: RNA ligands to bacteriophage T4 DNA polymerase. *Science* 249: 505–510.

2 Ellington AD, Szostak JW (1990) *In vitro* selection of RNA molecules that bind specific ligands. *Nature* 346: 818-822.

3 Aptapure™ is a registered trademark of LFB Biotechnologies

## FRACTIONNEMENT DES PROTÉINES VÉGÉTALES, SPÉCIFICITÉ, PRINCIPES ET LIMITES

---

**Véronique SOLÉ** – *INRA Nantes*

Aujourd'hui les protéines végétales présentent un enjeu de société en tant qu'alternative aux protéines animales dans un contexte de raréfaction des ressources et d'augmentation de la population mondiale. Au niveau européen, le développement de leur utilisation en alimentation permettrait de diminuer les imports de soja. Or l'introduction de protéines végétales risque de modifier la qualité sensorielle des aliments par leur propriété intrinsèque ou par interaction avec les

autres composants présents dans le produit.

On se propose donc d'étudier et préciser la relation existante entre structure et propriétés fonctionnelles des protéines issues du blé, colza et pois ce qui nécessite la purification d'une quantité importante de ces protéines.

Cependant, les protéines de réserve ont des propriétés particulières. En effet, elles constituent pour la graine une source d'azote qui est libéré lors de la germination par hydrolyse. Elles sont accumulées et concentrées au cours du développement dans les corps protéiques du grain, et elles sont classées en fonction de leur solubilité : les albumines sont solubles dans l'eau, les globulines dans les solutions salines et enfin les prolamines dans des solutions hydro alcooliques et les gluténines dans des solutions alcalines.

Ces caractéristiques nécessitent le développement et la mise en œuvre de méthodes d'extraction et de séparation adaptées. A travers chaque étape du fractionnement (extraction, purification et conservation), nous verrons l'importance de certains paramètres (pH, solvant...) sur l'état des protéines obtenues et donc leur solubilité et fonctionnalité.

## TECHNOLOGIES MEMBRANAIRES ET D'ÉCHANGES D'IONS DANS LES PROCÉDÉS DE PURIFICATION DES PROTÉINES LAITIÈRES ET VÉGÉTALES

---

**Florence LUTIN** - *Eurodia Industrie*

Le fractionnement du lait est un excellent exemple pour illustrer l'introduction de technologies avancées, comme : la filtration membranaire (microfiltration, ultrafiltration, nanofiltration), la déminéralisation par électrodialyse et échanges d'ions, la purification par chromatographie ionique. Ces technologies ont permis d'obtenir un fractionnement très poussé de la matière première avec une valorisation de chaque sous-produit, qui rend ainsi la filière économiquement viable.

Eurodia industrie a une expérience du traitement des lactosérum depuis 25 ans. Nous proposons des procédés optimisés de fractionnement et de déminéralisation des constituants du lactosérum, en intégrant toutes les contraintes de rejets et de coûts énergétiques. Concernant les protéines, nous citerons ici un exemple de développement qui illustre la maîtrise du couple : produit/technologie :

Les WPC (Whey Protein Concentrate) constituent un marché important. Les WPC sont les protéines sériques issues du lactosérum ou du perméat de lait microfiltré, concentrées par ultrafiltration. Cette déminéralisation se fait par échanges d'ions cationiques et anioniques. Sachant que le traitement par résines cationiques acidifie le milieu, par échange Cations/H<sup>+</sup> et que la résine anionique augmente le pH, par échange Anions/OH<sup>-</sup>, on peut de suite être retissant à traiter une solution protéique sachant qu'au cours du traitement, les protéines passeront par une forme insoluble quand elles atteindront leur point isoélectrique. Le traitement a été rendu possible par un parfait contrôle de l'hydrodynamique du système et des études de mise au point des conditions de traitement. Une résine anionique spécifique a été sélectionnée qui montrait une faible rétention des protéines, critère décisif, relatif au rendement du procédé. Plusieurs unités industrielles ont été réalisées qui assurent une déminéralisation jusqu'à 98% de solutions de WPC 60.

Eurodia, de par la maîtrise de ses différentes technologies et de ses connaissances approfondies des lactosérum, peut rapidement répondre aux mêmes problématiques dans le secteur végétal. Le marché actuel des protéines végétales étant en expansion, nous avons engagé des collaborations avec différents laboratoires ou centres techniques qui nous permettent de mettre à profit nos connaissances technologiques tout en acquérant celles spécifiques à chaque produit, sachant que les comportements des protéines de soja seront différents de ceux de pois ou de la luzerne...

Actuellement, un partenariat avec le CVG (Centre de valorisation des Glucides et des Produits Naturels-Amiens), permet à notre entreprise, en prenant le soja comme source protéique de référence, d'identifier les verrous technologiques que présente l'intégration des techniques membranaires. Le travail engagé avec l'unité de recherche ProBiogem-Polytech'Lille, permet de mettre au point l'étape de décoloration de la protéine blanche de luzerne.

---

## ELECTRODIALYSE MEMBRANAIRE : VERS DE NOUVELLES APPLICATIONS

---

### **Camille VIOT - CVG**

Parmi les technologies séparatives respectueuses de l'environnement, l'électrodialyse (ED) apparaît comme un procédé intéressant dans de nombreux secteurs d'activité : c'est le cas de l'industrie agroalimentaire, de l'environnement ou encore de la chimie. Selon la nature des membranes mises en jeu, l'électrodialyse va permettre de déminéraliser (ED conventionnelle) ou de convertir un sel en forme acide et en base associée (ED bipolaire).

Les procédés d'extraction et de purification d'isolats ou concentrats protéiques sont aujourd'hui bien connus dans l'industrie et reposent, entre autres, sur la solubilité des protéines en fonction du pH de la solution aqueuse, solubilité qui devient minimale lorsque le pH est égal au point isoélectrique. Une telle étape présente, entre autres, l'inconvénient de générer des quantités non négligeables d'effluents ; les procédés utilisés sont également longs à mettre en œuvre, et sont notamment très consommateurs d'eau au moment de l'élimination de la fraction minérale du produit. L'électrodialyse apparaît donc comme une alternative verte puisqu'elle ne nécessite aucun réactif chimique, hormis ceux destinés au nettoyage des membranes. Cette technologie est par ailleurs utilisée avec succès pour l'ajustement du pH du vin.

En partenariat avec la société EURODIA, le CVG s'est donc intéressé à un modèle connu, le tourteau de soja déshuilé, et a travaillé à l'optimisation du procédé d'obtention d'un isolat protéique intégrant l'électrodialyse bipolaire. Les premiers essais ont montré des temps d'acidification relativement courts pour conduire à l'obtention d'un isolat protéique comparable à celui obtenu par voie pH-métrique en termes de propriétés fonctionnelles.

---

## PRÉ-TRAITEMENT DES MATIÈRES PREMIÈRES PAR EAU SUBCRITIQUE POUR UNE MEILLEURE VALORISATION DES PROTÉINES VÉGÉTALES

---

**Sandrine MILÉSI \***, Guillaume DELVA, Iann RANCE - *Purifunction*

\*Corresponding Author : [smilesi@purifunction.com](mailto:smilesi@purifunction.com)

PURIFUNCTION est un centre technologique réalisant des prestations de services en R&D pour des tiers dans le domaine de l'extraction, de la purification, du séchage et de la caractérisation d'ingrédients et molécules d'origine naturelle (végétal, animal, micro-organismes). Sa particularité est de pouvoir proposer des compétences et des équipements pour le développement et l'optimisation de procédés industriels, de l'échelle kilo-lab à l'échelle pilote, ainsi que l'accompagnement lors de la phase d'industrialisation. L'Unité Pilote ATEX intégrée dans son bâtiment de 1800 m<sup>2</sup> équipé permet également de produire des pré-séries et des premiers lots commerciaux.

Par ailleurs, PURIFUNCTION développe seule ou en partenariat, des nouvelles technologies et procédés liés à la valorisation des matières naturelles. Dans ce cadre, PURIFUNCTION développe notamment la technologie d'EAU SUBCRITIQUE avec son partenaire TOURNAIRE.

L'eau est très largement utilisée en tant que solvant dans l'industrie. Les propriétés physico-chimiques de l'eau varient en fonction de sa température et de la pression à laquelle elle est soumise. Le terme SUBCRITIQUE désigne les conditions qui permettent de maintenir l'eau à l'état liquide pour des températures comprises entre son point d'ébullition à un bar et le point critique ( $100^{\circ}\text{C} < T < 374^{\circ}\text{C}$  et  $2 < P < 220\text{bars}$ ). A l'état subcritique, l'eau voit sa constante diélectrique ( $\epsilon = 80$  à  $25^{\circ}\text{C}$ ) diminuer pour arriver à  $\epsilon = 27$  à  $250^{\circ}\text{C}$ , ce qui est comparable à celle du méthanol ( $\epsilon = 33$ ) et de l'éthanol ( $\epsilon = 24$ ). Ce changement permet à des composés peu ou apolaire d'être solubiliser dans l'eau. De même, on observe une diminution de la tension de surface et de la viscosité de l'eau, ce qui augmente sa capacité de diffusion au sein des matrices solides. Ce sont ces changements de propriétés qui permettent d'utiliser l'eau comme solvant pour extraire des composés d'intérêt en lieu et place dans solvants organiques classiques dangereux à manipuler et ayant une incidence sur la santé et l'environnement, ou pour la valorisation de composés peu accessibles.

PURIFUNCTION étudie l'impact de la technologie par eau subcritique sur des matrices intéressantes pour l'obtention d'acides aminés, de peptides et composés protéiques. Les premiers résultats de l'évaluation montrent une augmentation importante des rendements d'extraction (entre 20 et 60%), ainsi qu'une augmentation des teneurs en protéines et acides aminés.

La technologie est notamment appliquée à des matières premières brutes ou encore à des co-produits de l'agroalimentaire (son de riz, tourteau de soja, ...).

## LA VALORISATION DES PROTÉINES VÉGÉTALES : QUE VA APPORTER IMPROVE ?

---

### Denis CHEREAU – IMPROVE

IMPROVE plateforme mutualisée d'innovation

Dédiée à l'extraction, la transformation et la valorisation des protéines végétales dans les secteurs de l'alimentation humaine et animale, de la cosmétique et des matériaux biosourcés, l'expertise scientifique d'IMPROVE s'articule autour de 6 thèmes principaux :

1. L'extraction de protéines solubles / natives et l'évaluation de leurs propriétés physicochimiques et fonctionnelles
2. L'agrégation, la réticulation et l'assemblage avec d'autres protéines/polysaccharides
3. L'hydrolyse enzymatique contrôlée - couplée avec le fractionnement en vue d'un enrichissement en protéines / polypeptides (orienté vers des fractions ayant certaines propriétés techno-fonctionnelles, nutritionnelles, biologiques)
4. L'évaluation des propriétés biologiques et des mécanismes d'actions des protéines végétales (nutrition, peptides bioactifs, allergénicité...)
5. Les modifications chimiques des protéines par des procédés durables
6. L'étude des problèmes sociaux économiques pouvant limiter l'acceptation des protéines végétales par les consommateurs

IMPROVE est une plateforme d'innovation dont l'objectif est d'améliorer la compétitivité de l'agro transformation Européenne et de participer à la dynamisation de la filière.

L'enjeu est double :

- Contribuer au développement agricole et industriel, en permettant de mieux valoriser les cultures agricoles européennes, d'améliorer la compétitivité de la filière dédiée à la transformation agricole et de développer de nouveaux marchés dans des secteurs en croissance.
- Permettre la création d'un pôle de compétence entièrement dédié à la valorisation des protéines végétales. Cet outil unique en Europe, prévoit des activités de recherche en propre, de recherche collaborative ainsi que de la prestation de services pour ses clients.

### **IMPROVE en quelques chiffres**

Une équipe de plus de 30 personnes (chercheurs & techniciens)

Une halle pilote de 800 m<sup>2</sup>, 6 laboratoires

8,8 M€ d'investissement en équipements sur 10 ans

Une équipe de plus de 30 personnes (chercheurs & techniciens)

Hall pilote de 800 m<sup>2</sup>, 6 laboratoires

8,8 M€ d'investissement en équipements sur 10 ans

---

## **PROCESSING CEREALS PROTEINS: VERSATILE RAW MATERIALS**

**Paul DE PAUW et Johan GEEROMS - Tereos Syral**

Tereos-Syral is producing more than 4 million ton of starches, proteins and coproducts in its 10 operations located in Europe and Brazil, and based on raw materials such as wheat, corn, potatoes and manioc. In order to separate these largely different raw materials, a wide variety of unit operations is necessary. A combination of gravitational, sieving, extraction, filtering and other technologies will finally yield a series of refined end products....

On the level of protein separation, the recuperation, purification and drying techniques are also very different, but they all share the same aspect: the very large scale of it.

---

## **EXTRACTION DE LA BÉTA-AMYLASE À PARTIR DE PLANTE AMIDONNIÈRE**

**Aline LECOQC - Roquette Frères**

La bêta-amylase, exo-hydrolase qui libère des unités de maltose à partir des extrémités non réductrices des polymères de glucose liés en  $\alpha$  1-4 est une enzyme largement utilisée dans le processus d'hydrolyse de l'amidon pour obtenir des sirops de glucose particuliers. Elle est naturellement présente dans le grain de blé.

Cette protéine enzymatique se retrouve dans les résidus liquides, encore appelés « fractions solubles » de l'amidonnerie de blé, produites lors de la séparation par voie humide des composants tel que l'amidon, le gluten et les fibres.

Le procédé d'extraction de la béta-amylase comprend une première étape de clarification par microfiltration tangentielle des fractions solubles, de manière à en éliminer les substances insolubles résiduelles et les colloïdes. Une seconde étape d'ultrafiltration permet d'obtenir une préparation purifiée et concentrée d'enzyme. Pour finir, celle-ci est stabilisée avant d'être utilisée comme auxiliaire technologique.

## PURIFICATION DE PROTÉINES : DE L'INNOVATION À LA MISE EN ŒUVRE INDUSTRIELLE

---

### **Frédéric SCHAB – Novasep**

De multiples méthodes permettent d'isoler des protéines à l'échelle analytique ou à celle du laboratoire : HPLC, électrophorèse... Toutefois, dans le cas de protéines à faible valeur ajoutée, produites à hauteur de plusieurs milliers de tonnes par an, la transposition à l'échelle industrielle de ces solutions se heurte fréquemment aux exigences de viabilité économique.

Qu'elles soient issues du végétal, de l'industrie laitière, ou encore obtenues par fermentation, les solutions protéiques se présentent généralement sous la forme de mélanges complexes, de composition souvent variable.

Dès lors, la production industrielle des protéines cibles pose un double défi technologique : celui de développer un procédé de purification robuste et économique permettant d'atteindre les objectifs de pureté tout en répondant aux contraintes locales du site de production (coût des des utilités, contraintes environnementales...).

Pour relever le challenge industriel, Novasep élabore des lignes de purification optimisées et conçues à façon pour chaque application, en combinant diverses opérations unitaires sélectionnées parmi sa gamme de technologies séparatives : chromatographie, filtration membranaire, électrodialyse.

Au travers d'exemples sélectionnés parmi les réalisations de Novasep dans le domaine des protéines ou des acides aminés, la présentation s'attachera à expliciter la méthodologie de montée en échelle, depuis le développement au laboratoire du procédé de purification jusqu'à sa mise en oeuvre industrielle.

## STRATÉGIES DE PURIFICATION DES ANTICORPS MONOCLONAUX : APPROCHES PAR PLATEFORME

---

### **Nicolas MOUZ - PX'Therapeutics**

Les succès thérapeutiques et commerciaux des anticorps monoclonaux ont induit des besoins en développements rapides de procédés de productions ainsi que des besoins de productions en grande quantité (marchés importants et doses thérapeutiques élevées). De plus la nécessité de réduire les

coûts de fabrication a constitué un moteur à l'amélioration des technologies de production des anticorps.

Les similarités biochimiques de cette classe de produits ont permis aux compagnies pharmaceutiques et biotechnologiques de mettre en place des approches plateformes pour réduire les temps de développements et les ressources humaines nécessaires à la conduite d'un projet anticorps thérapeutique. Ces plateformes doivent malgré tout rester flexibles pour s'adapter aux différences physicochimiques qu'ils existent entre les anticorps.

La première étape du procédé downstream consiste en la séparation des cellules et des débris cellulaires du milieu de culture qui contient les anticorps sécrétés. Pour cela, à l'échelle industrielle, une centrifugation en continue suivie d'une étape de filtration en profondeur sont souvent réalisées.

L'étape suivante est une chromatographie d'affinité. La chromatographie sur Protéine A permet de capturer les anticorps et de réduire de façon importante les volumes des étapes suivantes. Cette étape, très sélective des anticorps, permet d'obtenir un niveau de pureté très important. Un lavage sur colonne permet de réduire les quantités de protéines provenant de la cellule productrice (protéines de l'hôte) et d'autres impuretés. Le produit est ensuite élué à pH acide.

La plupart des anticorps sont stables à pH acide, permettant ainsi de réaliser une inactivation virale à bas pH. La solution est ensuite neutralisée afin de conserver les anticorps à un pH où ils sont plus stables et afin de préparer les étapes subséquentes de polishing.

Deux étapes chromatographiques avec des modes d'interactions orthogonales sont classiquement mises en œuvre pour réduire les impuretés liées à l'hôte (HCP, ADN), les impuretés liées au procédé (Protéine A...) et les impuretés liées au produit (agrégats).

La nano-filtration est enfin utilisée pour compléter l'étape d'inactivation virale. L'étape finale du procédé est l'ultrafiltration/diafiltration pour formuler et concentrer le produit. Différentes approches de purification seront discutées pendant la présentation.

---

## PRODUCTION & PURIFICATION D'IGM RECOMBINANTS EN CELLULES CHO

---

### **Hervé GINISTY** - *GTP Technology*

La plateforme CHO X-press de GTP Technology permet l'expression de rIgM humanisés avec des rendements de l'ordre de 30 mg/L. La taille importante de cette classe d'anticorps (environ 1 Million de Da) ne permet pas une purification optimale sur les supports de chromatographie standards.

Une étude et un dimensionnement des filtres en profondeurs optimaux pour la récolte cellulaire et la clarification et de supports de chromatographie de capture « atypiques » (Monolites, chromatographie sur membrane) a été initiée afin de mettre au point une plateforme de purification des rIgMs exprimés en CHO.

## L'ÉLIMINATION DE CONTAMINANTS PAR CHROMATOGRAPHIE SUR MEMBRANE: ÉTAT DES LIEUX, APPLICATIONS CLÉS ET INNOVATIONS

---

**Amélie RAVENEAU** - *Sartorius Stedim Biotech*

La chromatographie est un pilier de l'industrie biopharmaceutique, et reste une étape indispensable dans tous les procédés de bio-purification. Les résines ont constamment évolué en fonction des besoins du marché et sont toujours indispensables, afin de répondre aux exigences réglementaires, en termes de pureté des biomolécules. Il paraît encore difficile de concevoir un procédé sans étape de chromatographie sur colonne. Cependant, il est possible d'envisager d'autres alternatives pour les étapes de polishing, afin d'éliminer des contaminants tels que l'ADN, les protéines de la cellule hôte, les endotoxines, les agrégats ou les virus. Ainsi, les membranes de chromatographie ont peu à peu trouvé leur place au côté des colonnes. Elles sont aujourd'hui couramment utilisées pour l'élimination de contaminants et régulièrement validées en tant qu'étape de clairance virale.

Cette présentation permettra de répondre à trois questions :

- Pourquoi peut-on envisager l'utilisation de membranes de chromatographie en étape de polishing et peuvent-elles réellement égaler les performances des résines?
- Quelles sont les applications clés des membranes de chromatographie, déjà validées dans l'industrie biopharmaceutique ?
- Ces membranes peuvent-elles encore être innovantes et permettre de relever de nouveaux challenges ?

## SÉCURITÉ VIRALE DES MÉDICAMENTS D'ORIGINE BIOLOGIQUE

---

**Nicolas DUMEY** - *Texcell*

Les médicaments d'origine biologique, issus d'extraction ou dérivés de cultures de cellules, d'origine humaine ou animale, sont par nature potentiellement contaminés par des virus endogènes ou adventices.

Afin d'assurer une sécurisation de ces produits, des approches complémentaires ont évoluées, basées d'une part sur des tests de détection de contaminants viraux sur les réactifs et les produits de dépôts et d'autre part basées sur des études d'élimination ou d'inactivation virales par les étapes des procédés de fabrication.

Les techniques séparatives, selon leurs caractéristiques, peuvent jouer un rôle dans l'élimination virale.

Cette présentation aura pour objectif de faire l'état des lieux des différents aspects à mettre en œuvre pour valider les capacités d'élimination d'une étape de purification vis-à-vis de virus représentatifs.

**Oliver TRIEBSCH** – *Pall GmbH*

The benefits of membrane chromatography for DNA and host protein removal have received increasing recognition and have made it a routine process step in large scale biopharmaceutical manufacturing processes. This has opened further opportunities for interesting new applications like removal of impurities and viruses. Current membrane chromatography products have demonstrated the capacity to remove most viruses by adsorptive removal. Their high-flow rate, high capacity performance characteristics can overcome existing technical limitations of column chromatography.

Size exclusion membrane filtration has also demonstrated high efficacy for virus removal, and has become a well-accepted orthogonal method for the clearance of infectious viruses. As the cost of processing is one of the main considerations in downstream processing, attention is now turning increasingly to how best to control such costs. The focus of this talk is on how to maximize the economy and efficacy of the entire virus membrane chromatography and filtration process.

## CONCEPT DU QUALITY BY DESIGN APPLIQUÉ AUX PRODUITS DE BIOTECHNOLOGIE

---

**Christian VALENTIN** – *Sanofi Pasteur*

L'intervention "Concept du Quality by Design appliqué aux produits de biotechnologie" introduira les concepts technico réglementaire innovants que sont le Quality by design et l'approche PAT ( process analytical technology ) .ces concepts reposent sur les piliers fondateurs que sont le développement des procédés , le management du risque et l'évolution des systèmes Qualité ( textes ICH série Q8-Q11) , ceux-ci seront rapidement présentés ainsi que le concept du design space auquel est associé les processus d'amélioration continue .

Dans une seconde partie, cette intervention abordera plus spécifiquement l'implémentation de la méthodologie Quality by design et des outils PAT appliqués aux spécificités des produits issus des procédés de biotechnologie : 2 études de cas seront rapidement présentées, pour conclure sur les facteurs clés de succès d'une approche Quality by design.

## IMPACTS ET BENEFICES DU PAT DANS LES PROCÉDES INDUSTRIELS "DOWNSTREAM"

---

**Margit HOLZER** - *Ulysse Consult*

Laurence PEGON - *Novasep Process*

Les "Process Analytical Technology" (PAT) ont pour but de valider l'innovation et l'efficacité, au niveau des développements de procédés, de la fabrication et de l'Assurance Qualité dans l'industrie pharmaceutique.

A travers cette initiative, la FDA souhaite encourager l'utilisation effective des technologies les plus récentes dans le domaine de la pharmacie au niveau de la connaissance des principes d'engineering et des développements technologiques qui peuvent améliorer l'efficacité des procédés de fabrication.

A travers l'étude de trois technologies différentes nous analyserons les procédés PAT qui ont été développés, en incluant le changement d'échelle pour une implémentation au niveau industriel.

Le premier cas concerne le monitoring d'un système de dilution en ligne ("in-line") pour le contrôle de la composition de tampons dilués dans l'eau dans un procédé chromatographique ou de filtration (TFF: Tangential Flow Filtration). La dilution "in-line" est un concept relativement simple mais sa mise en œuvre dans un procédé industriel dans le domaine pharmaceutique est un challenge important dans la mesure où les solutions tampon doivent avoir des spécifications très précisément définies.

Le second cas étudié est le développement d'un monitoring en parallèle ("at-line") pour la purification de lipides dans un procédé de chromatographie par lot ("batch"). Les solutions classiques de monitoring telle la détection UV ne fonctionnent pas pour les produits qui n'ont pas de chromophores; et des méthodes alternatives telle la détection par évaporation (ELSD : Evaporative Light Scattering Detection) doivent être mises en jeu pour définir une stratégie de regroupement des fractions collectées et de composition finale du produit purifié.

Le dernier cas étudié concerne le principe de la Chromatographie Séquentielle Multi-Colonne et les stratégies de monitoring "on-line" pour ajuster la composition de l'éluant dans une fenêtre bien définie grâce à un procédé de rétroaction (feedback) reposant sur une approche PAT.

En se basant sur les conclusions tirées de chacun cas étudié, les potentiels de ses technologies/ concepts seront discutés.

MMBL

## CARACTÉRISATION DES PROTÉINES THÉRAPEUTIQUES, TRANSFERT DE MÉTHODES SUR DES SYSTÈMES PAT

---

**David LASCOUX** - *Waters*

Pour améliorer le process ou pour satisfaire aux demandes des instances de control, la production d'une biothérapeutics demande de plus en plus une caractérisation. La société Waters a développé des solutions qui permettent de répondre à ces contraintes de productions.

Nous verrons comment il est possible de complètement caractériser en ligne ou pas à la fois les API et leurs impuretés à l'aide de système UPLC innovants, uniques et dédiés.

## APPLICATIONS OF FORTEBIO SYSTEMS IN DOWNSTREAM AND GMP ENVIRONMENTS

---

### **Arnaud VONARBURG** – *FortéBIO, Division de Pall Life Sciences*

FortéBio (division de Pall Life Sciences) fournit de systèmes analytiques, accélérant la recherche et le développement de molécules thérapeutiques. Les analyses en temps réel et sans marquage, d'interactions biomoléculaires apporteront des informations sur l'affinité, les cinétiques et la concentration des molécules. Les capacités analytiques de FortéBio constitueront une valeur ajoutée aux applications de développement de molécules pour lesquelles les méthodes existantes ont des limitations de débit, performance (gamme de détection, ...) et de coût.

FortéBio participe pleinement aux activités de DSP dans le cadre d'optimisation des procédés de purification. Ainsi, le calcul du titre renseignera sur les meilleures conditions d'accroche et d'élution de la molécule en phase de capture, de polissage,..., les performances des phases d'UF/DF ou encore l'évaluation de la capacité d'accroche dynamique (DBC) d'un système.

De même, la détection et la quantification des contaminants (protéine A résiduelle, HCP) viendront compléter cette optimisation.

En parallèle à la mesure du titre, les mesures d'interactions et d'affinité définiront l'activité de la molécule (ex : reconnaissance d'un récepteur type FcRn) au fur et à mesure de la purification, et permettront de caractériser des lots de production (ex : une ou plusieurs formes de la molécule sont produites, et différent au niveau de cette activité).

## PROCÉDÉS À USAGE UNIQUE EN ULTRAFILTRATION : SOLUTIONS POUR MINIMISER LES COÛTS DE DÉVELOPPEMENT ET DE PRODUCTION

---

### **Jean GUILLERM** - *Novasep*

Dans cette présentation, nous allons voir quels sont les besoins des divers types d'utilisateurs des techniques d'ultrafiltration pour la production de molécules. De la recherche au développement, à la production des lots de phase II et phase III, aux lots cliniques jusqu'à la production industrielle, nous allons montrer l'intérêt de l'usage unique en terme de flexibilité, d'organisation, de validation et de diminution des coûts. Nous donnerons la parole à certains de nos clients qui utilisent ces produits en recherche et développement et en production.

## ASPECTS RÉGLEMENTAIRES ET ENVIRONNEMENTAUX DE L'USAGE UNIQUE

---

### **Hélène PORA** - *Pall Life Sciences*

Les systèmes à usage unique sont très utilisés dans les procédés de biotechnologie à visée pharmaceutique et complètent ou se substituent aux systèmes en inox ou verre. En raison de leur composition en matière plastique leur validation nécessite une démarche particulière surtout concernant les extratibles/relargables et leur stérilisation. Comme ils sont jetables, ils génèrent des déchets, cependant cet impact sur l'environnement est largement contre-balancé par de nombreux avantages qui permettent de diminuer le bilan carbone par rapport à des systèmes en inox.



## *Résumés des posters*

POSTER #A2

---

**Accinov - the innovation platform of Lyonbiopole - enables companies to develop biotechnology activities complying to highest quality standard with state-of-the art and ready-to-use facilities.**

**Sylvain PEYRACHE - ACCINOV**

Since its founding in 2005, Lyonbiopole, the Rhône-Alpes region's health cluster has always been leading a strong infrastructure policy. Thus, Accinov is one of the most recent projects initiated by Lyonbiopole which contributes to structuring the local business environment in biotechnologies and biopharmaceutical sciences. Indeed, Accinov is a new innovation platform where companies may find state-of-the art BSL-2 cleanrooms to accommodate technical activities ranging from analytical services and process development to the production of biological new drugs. The new building includes 24 BSL-2 laboratories and 3 biomanufacturing units that are available on a flexible time basis. More than renting, Accinov will accelerate the projects hosted in the platform not only thanks to its ready-to-use facilities but also thanks to the on-site services including the management of infrastructures and quality assurance support according to the highest quality standards (ISO9001, GLP, GMP).

POSTER #B1 - SESSION 2

---

**Chromatographic Tools for the Polishing of Therapeutic Proteins**

**Mark A. SNYDER - Bio-Rad**

The final Polishing step in any protein purification scheme is critical to the removal of residual impurities to ensure product quality. For this purpose, end users have explored all types of chromatographic interactions with varying degrees of success. Each technique presents a set of benefits and challenges that must be balanced against quality parameters and cost demands for a given process.

The current presentation describes the application of various common and more novel modes of chromatography in the context of final polishing applications. Single mode and mixed-mode chromatography, as well as the emerging use of higher resolution Ion Exchange techniques are presented. Additionally, strategies to optimize purification schemes using these novel methods are discussed and compared to more traditional approaches.

## **Optimisation économique du procédé de production de protéines lyophilisées par la technologie evapeos®**

**Fabrice GASCONS VILADOMAT - EDERNA**

Les procédés de production de poudres de protéines sont généralement composés de deux principales étapes : l'extraction/purification et le séchage. La lyophilisation est une technique de séchage à froid particulièrement énergivore mais, malgré tout, très employée car elle ne dénature pas les protéines. Les solutions de protéines issues de la phase d'extraction/purification sont très diluées (rarement plus de 10%MS). La quantité d'eau à retirer en lyophilisation est donc considérable et le séchage long et coûteux.

La technologie evapeos permet de pré-concentrer ces solutions jusqu'à 30%MS, à moins de 20°C, afin de diminuer le coût de la lyophilisation.

Une étude économique a été conduite sur une ligne de production de protéines lyophilisées modèle. Cette étude a démontré que, suite à l'intégration de la technologie evapeos à la ligne de lyophilisation existante, la capacité de production a été quadruplée. De surcroît, les coûts de la phase de séchage ont été réduits de plus de 60% et les émissions de CO<sub>2</sub> équivalentes réduites de plus de 70%.

L'intégration de la technologie evapeos aux procédés de lyophilisation permet donc d'en augmenter la productivité tout en améliorant les marges et en réduisant leur impact environnemental."

## **Three Step Eshmuno A Poster**

**Matthieu MIESCH - Merck Millipore**

This study showcases a portfolio of commercially available biopharmaceutical chromatography resins designed for the efficient purification of monoclonal antibodies. A three-step purification process has been implemented which showed effective removal of the main contaminants, low ligand leakage, and high yields over the entire process. Two Protein A affinity chromatography resins were evaluated as the first step in the process. One of the resins is based on controlled pore glass while the other is a rigid polymeric resin. The Protein A elution pools were further purified using cation exchange chromatography. Two cation exchange resins with different selectivities were compared. The final purification step consisted of either an anion exchange chromatography resin or an anion exchange membrane adsorber. The product yield, HCP removal, leached Protein A removal, and aggregate content were evaluated at each step in the process. Final process yields ranged from 80 to 90 percent. This work highlights the purification capabilities of a collection of resins designed for efficient Mab purification.

## Efficient separation of antibody light chains from bi-specific antibody monomer using mixed-mode sorbents

Magali TOUEILLE - *Pall Life Sciences*

Bi-specific antibodies are currently considered as one of the most promising class of next generation therapeutic molecules and in the coming years a growing number of such products are expected on the market. Purification of bi-specific antibodies presents unique challenges compared to that of monoclonal antibodies, and chromatographic sorbents will therefore have to answer those specific requirements. In the present study, the use of mixed-mode sorbents as capture step for the purification of a bi-specific antibody was investigated, with specific focus on the separation of the abundant antibody fragments (light chains) from the monomeric form. Three mixed-mode sorbents were evaluated for their performance in antibody light chains elimination. Our data indicated that two out of the three evaluated sorbents allowed efficient removal of antibody light chains thanks to the possibility to selectively elute antibody from the column while retaining fragments on the resin. Up to 97% pure monomers were recovered after only one purification step using mixed-mode sorbents while the initial monomer purity was about 30%. Concomitantly, satisfying recovery and efficient CHOP removal (> 1log) were obtained. Altogether, those data reveal that mixed-mode chromatography is a powerful tool to address the future challenges of purification of the growing bi-specific antibody class of biomolecules.

## Production et sécrétion de protéines recombinantes à usage thérapeutique par des chevelus racinaires

Michèle BOITEL-CONTI - *Université de Picardie Jules Verne*

La culture en milieu confiné d'organes végétaux tels que les chevelus racinaires offre de réels avantages en termes de coût de production et de sécurité sanitaire pour la production de protéines recombinantes à usage thérapeutique. En effet, le procédé RhizoProt (Brevet EP 10305478.0 licencié à la société Root Lines Technology) conçu au laboratoire Biologie des Plantes et Innovation (BIOPI) de l'Université de Picardie Jules Verne (UPJV) implique une espèce végétale communément utilisée comme légume ne nécessitant, pour sa culture, aucun produit dérivé animal tel que les sérums bovins utilisés pour la culture des cellules de mammifères. De plus, les virus humains sont incapables de se répliquer dans les cellules végétales. Bien que ce risque infectieux soit contrôlé dans les systèmes de bioproduction utilisant les cellules de mammifère, il entraîne cependant des coûts de filtration et de contrôle qualité non négligeables. Les chevelus racinaires se développent dans des milieux extrêmement simples ne contenant que des minéraux à faible concentration, quelques vitamines et des sucres. Ils ne nécessitent ni lumière, contrairement aux autres systèmes de production en plante entière, ni phytohormones de croissance, contrairement aux cultures de cellules végétales et pas de chauffage à 37°C comme pour les cultures bactériennes ou de cellules CHO. Les chevelus racinaires sont des systèmes biologiques extrêmement robustes capables de supporter des modifications importantes de l'environnement (température, pH...). Ceci offre autant de possibilités de moduler les conditions de culture afin de les mener au plus près des optimums de stabilité de la protéine d'intérêt sécrétée dans le milieu. La séparation de la biomasse du milieu de culture est extrêmement simplifiée par rapport à la plupart des systèmes de cultures de cellules (animales, végétales ou microbiennes) qui nécessitent des étapes de filtration/centrifugation pouvant être onéreuses. La bio-

masse produite n'est pas détruite et peut entrer dans un second cycle de production. Si les glycosylations effectués par les systèmes végétaux peuvent être un frein à la production de certaines protéines qui deviennent alors immunogènes pour l'homme, elles deviennent cependant un avantage concurrentiel fort pour le marché des vaccins recombinants. En effet des études ont montrées qu'il était possible d'augmenter le pouvoir allergène, et donc immunisant, de certaines protéines destinées à la mise en œuvre de vaccin. Le poster détaille les résultats obtenus avec la protéine modèle eGFP : 120 mg/l représentant 90% des protéines totales sécrétées et présente les résultats en cours avec des protéines et des peptides d'intérêt.

POSTER #G11 - SESSION 2

---

## Optimization of gliadins purification from gluten

**Véronique SOLÉ** - *INRA Unité Biopolymères Interactions Assemblages*

Gluten proteins are the major storage proteins of wheat; they are divided into two groups: HMW (High Molecular Weight) soluble in alkaline solutions and Gliadins soluble in ethanol-water mixture. Their fractionation at analytical scale is classically obtained using reversed phase chromatography. This technique was not applicable at a preparative scale because of the loss of resolution and performance which led to contaminated fractions and also because of its high cost.

As gliadins interact non-specifically with the matrix, different chromatography media have been tested for their ability to separate the different types of wheat gluten proteins.

A multi-step process was necessary to purify each type of gliadins. Among the matrices screened for the first step, the S Ceramic Hyper D (Pall) was retained for its ability to fractionate roughly the four gliadins types and its interesting capacity to concentrate slow and fast omega gliadins in the first peaks of elution. Then other steps were chosen and optimized to refine the purity from these enriched fractions: gamma gliadins were separated on hydrophobic interaction chromatography (HIC) and eluted with an ethanol gradient, alpha and beta gliadins were purified by gel filtration. The purity of each gliadins fraction was evaluated by electrophoresis and analytical reversed phase HPLC.

POSTER #H12 - SESSION 2

---

## High-level expression and purification of recombinant human Apolipoprotein A-I in *Pichia pastoris*

**Vignesh Narasimhan JANAKIRAMAN** - *ENSTBB-IPB*

Apolipoprotein A-I (ApoA1) is the major protein component of the High Density Lipoprotein (HDL) complex, commonly addressed as the "good cholesterol," The HDL helps reduce risk of cardiovascular disorders mainly due to its ability to remove accumulated cholesterol from arteries (reverse cholesterol transport). An increase in the plasma levels of ApoA1 is generally accepted to be cardioprotective, making it a potential therapeutic. However, recombinant ApoA1 is rapidly cleared from the plasma and is also prone to oxidation by myeloperoxidase.

In this study, we present a method to facilitate high-level secreted expression of human ApoA1 in its native form (without incorporation of an affinity tag) by the methylotropic yeast *Pichia pastoris* in a bioreactor, followed by a comparison of several purification methods (two-phase extraction, cold acetone precipitation, ion-exchange chromatography and mixed-mode chromatography) to efficiently recover the protein with highest efficiency. This process is scalable and can be employed to effi-

ciently express recombinant human ApoA1 in *Pichia pastoris* followed by its single-step purification from the *Pichia* expression broth.

---

## POSTER #I14 - SESSION 1

### **Highly efficient inoculum propagation in perfusion culture using WAVE Bioreactor™ systems**

**Pascale GERIN** - GE Healthcare Life Sciences GmbH  
Christian Kaisermayer(1,2), Jianjun Yang(3)

(1) GE Healthcare Life Sciences, Björkgatan 30, 751 84 Uppsala, Sweden.

(2) E-mail: Christian.Kaisermayer@ge.com.

(3) GE China Research and Development Center Co. Ltd. Shanghai, China.

A perfusion-based process was developed to increase the split ratio during the scale-up of CHO-S™ cell cultures. Fedbatch cultures were inoculated with cells propagated in either batch or perfusion cultures. All cultures were grown in disposable Cellbag™ bioreactors using the WAVE Bioreactor system. Cell concentrations of  $4.8 \times 10^7$  cells/mL were achieved in the perfusion culture, whereas the final cell concentration in the batch culture was  $5.1 \times 10^6$  cells/mL. The higher cell concentration of the perfusion culture allowed for a more than six-fold increase of the split ratio to about 1:30. The method described here, can reduce the number of required expansion steps and eliminate the need for one or two bioreactors in the seed train. Single-use bioreactors at benchtop scale can be used for direct inoculation of production bioreactors.

Alternatively, high biomass concentrations accumulated in perfusion culture can be used to seed production vessels at increased cell concentrations. Thus, the process time, which often is the bottleneck in plant throughput in these bioreactors, can be shortened.

---

## POSTER #J15 - SESSION 2

### **Polishing of monoclonal antibodies in bind/elute mode using Capto™ MMC ImpRes**

**Sylvain SOPENA** - GE Healthcare Life Sciences GmbH

A rapid procedure to establish a robust second step for the purification of a MAb using the multimodal resin Capto MMC ImpRes in bind/elute mode is shown. The results from optimization of the loading conditions show high yield of monomeric MAb, as well as good clearance of aggregate, host cell protein (HCP), and leached protein A. Experimental results obtained on predictor plates have been validated on HiScreen column format.

## High Performing Fed-Batch Culture in a WAVE Bioreactor™ system using the ActiCHO Media System

**Pascale GERIN** - *GE Healthcare Life Sciences GmbH*

Thomas Falkman, Eric Fäldt and Anita Vitina

*GE Healthcare Bio-Sciences AB, Björkgatan 30, SE-751 84 Uppsala, Sweden*

Higher yields, more potent compounds, smaller batch sizes and the cost pressure on R&D budgets push the production of biopharmaceuticals towards single use bioreactors.

Especially simple cultivation systems like the WAVE Bioreactor can be an attractive platform for the production of e.g. monoclonal antibodies by high cell density fed-batch processes.

We have developed a high cell density fed-batch process based on an IgG1 producing CHO cell line and the ActiCHO Media System (PAA) platform in conventional stainless steel bioreactors up to 100-L cultivation volume. The process yielded in maximum viable cell densities in the range of 20 MVC/ml and product titers in the range of 4 g/L. The process was then transferred to a WAVE Bioreactor system (Fig. 1 and Fig. 2) and the process performance was evaluated in both 10-L and 100-L scale.

## Development of innovative surfactants (amphipols) for membrane proteins studies in both basic and applied research.

**Christel LE BON** - *C.N.R.S./Université Paris-7 UMR 7099*

Fabrice Giusti, Bruno Miroux, Jean-Luc Popot & Manuela Zoonens

Membrane proteins are localized at the surface of the cell, which is a strategic position for cell communication by signals transmission between outside and inside the cytoplasm. They are also the first proteins recognized by the immune system when an infection occurs. In addition, they are key elements in resistance against antibiotic therapy. As a consequence, membrane proteins are major drugs targets. Their potential in biotechnology is substantial, however, their investigation is slowed down because of their difficulty to be produced and purified. Indeed, their hydrophobic transmembrane surface makes them water-insoluble but in the presence of surfactants they become water-soluble. Detergents are usually used from solubilization to purification steps but they often destabilize membrane proteins. In the laboratory, we are developing, since the last twenty years, novel and less destabilizing surfactants that are amphipatic polymers, called amphipols (1). They were designed to present such a high affinity for the hydrophobic surface of the protein that their association is quasi-irreversible. The size of the complexes they form with membrane proteins is small enough to be compatible with biochemical and biophysical studies. Also, they improve the stability of membrane proteins they interact with.

Amphipols divert from poly-acrylic acid polymer after grafting at random long- and short-chain amines. A major asset of amphipol technology is its chemical versatility. Indeed, the chemistry of amphipols allows modifications and labeling, generating a library of molecules with different molecular structures, expanding the scope of applications. For example, the polymer can be functionalized with a tag, such as a biotin (2), in order to immobilize membrane proteins onto a surface without genetics modification of the membrane protein. This application has prospects in diagnostic and drug

screening (ligand or antibody binding, protein purification). Fluorescent dyes can also be grafted for microscopic experiment (visualization). Because amphipols stabilize membrane proteins, they are useful for many other applications (1) such as functional studies, ligand-binding studies, electron microscopy, mass spectrometry, NMR (3), but also for vaccine application (4), vectorization and other biomedical applications.

(1) J.-L. Popot et al. (2011) *Amphipols from A to Z. Annu. Rev. Biophys.* 40:379-408

(2) D. Charvolin et al (2009) *The use of amphipols as universal molecular adapters to immobilize membrane proteins onto solid supports. Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 106: 405-410

(3) M. Zoonens, et al (2005) *NMR study of a membrane protein in detergent-free aqueous solution. Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 102: 8893-8898.

(4) D. F. Tifrea, et al (2011) *Amphipols stabilize the Chlamydia major outer membrane protein and enhance its protective ability as a vaccine. Vaccine* 29:4623-4631.

---

## POSTER #M18 - SESSION 2

### High Throughput Chromatography Sorbent Screening using the ScreenExpertSM Platform for the Development of a Fab Purification Strategy

Vincent Ravault and **Virginie BROCHIER** - *PALL BioSeptra*

This study describes the development of a three-step process strategy for the purification a fragment of antibody (Fab) expressed in *Pichia pastoris* using a ScreenExpertSM platform that includes 96-well plates pre-filled with chromatography sorbents, robotics and analytics.

High-throughput chromatography sorbent screening was performed, based on 80 process conditions per day in AcroPrep™ ScreenExpert 96-well filter plates with minimal sample consumption (<5 mL), and conditions transferred to column chromatography using 1 mL prepacked columns.

The combination of high throughput screening and fast analytics allowed the development of the capture step in four days and the transfer on lab-scale columns in 4 extra days. The screening of the intermediate and polishing steps were conducted in one day each and the transfer on lab-scale columns in 1 extra day each.

The final three-step process, consisting of a cation exchange capture step in bind/elute mode followed by two negative steps (flowthrough mode) of respectively mixed-mode (intermediate step) and anion exchange (polishing step) chromatography resulted in an overall recovery of 70% of a >99% pure Fab fragment containing less than 30 ppm Host Cell Proteins (HCP).

This study illustrates the benefits of High-throughput chromatography sorbent screening platform for identifying purification strategies with minimal sample and time consumption.

---

## POSTER #N19 - SESSION 3

### Enhancing Efficiency and Economics in Process Development and Quality Control of Biotherapeutics

**Arnaud VONARBURG** - *Pall FortéBio*

FortéBio (division de Pall Life Sciences) fournit de systèmes analytiques, accélérant la recherche et le développement de molécules thérapeutiques. Les analyses en temps réel et sans marquage, d'interactions biomoléculaires apporteront des informations sur l'affinité, les cinétiques et la concen-

tration des molécules. Les capacités analytiques de FortéBio constitueront une valeur ajoutée aux applications de développement de molécules pour lesquelles les méthodes existantes ont des limitations de débit, performance (gamme de détection, ...) et de coût.

FortéBio participe pleinement aux activités de DSP dans le cadre d'optimisation des procédés de purification. Ainsi, le calcul du titre renseignera sur les meilleures conditions d'accroche et d'élution de la molécule en phase de capture, de polissage, ..., les performances des phases d'UF/DF ou encore l'évaluation de la capacité d'accroche dynamique (DBC) d'un système.

De même, la détection et la quantification des contaminants (protéine A résiduelle, HCP) viendront compléter cette optimisation.

En parallèle à la mesure du titre, les mesures d'interactions et d'affinité définiront l'activité de la molécule (ex : reconnaissance d'un récepteur type FcRn) au fur et à mesure de la purification, et permettront de caractériser des lots de production (ex : une ou plusieurs formes de la molécule sont produites, et différent au niveau de cette activité)

---

POSTER #O20 - SESSION 2

## **Effective transfer of in vivo monoclonal antibody production to a highly efficient and economical in vitro method.**

**Sylvie MERCIER** - *RD-Biotech*

The production of monoclonal antibodies (mAbs) using the ascites method is becoming increasingly more difficult to justify due to the pain and distress caused to the host animal and the availability of alternative in vitro methods. RD-Biotech, a major provider of bio production services in France has developed and optimised an economical approach for in vitro production of mAbs. The work presented here illustrates the successful production and purification of two mAbs using this methodology. We have been able to compensate low mAb concentration in some culture supernatants by significantly increasing the volume of production up to 120L per batch in totally serum free medium, thus enabling high yields. The rapid production phase or upstream process (around 12 days) was demonstrated to avoid any instability problems occurring with some hybridoma. Downstream and purification followed a GMP like process as follows: Clarification of culture supernatant was performed with deep filtration filter unit followed by a tangential flow filtration step in order to concentrate by a factor of 15. Then monoclonal antibodies were purified by protein A affinity chromatography followed by ion exchange chromatography as a polishing step. We show in the present study that antibodies produced by our technology have the same properties as the reference in vivo produced antibodies.

This cost effective, rapid in vitro technology yields highly purified antibodies (from few mg up to several grams) and represents a highly competitive alternative technology to hollow fiber technology which remains time consuming, very expensive and less adaptable to some applications.

## Electroextraction de protéines en flux à partir de levures et micro algues

Jean-Baptiste LEROY - *BETA tech*

Les microalgues (MA) constituent une source reconnues de molécules à haute valeur ajoutée (HVM) utilisées dans les domaines de la santé, cosmétique, nouveau carburants etc. L'utilisation des HVM nécessite des étapes d'extraction et de purification qui malheureusement sont peu durables car consommatrices en énergie (séchage, broyage) et solvants (extraction, purification). L'électro-extraction est une alternative crédible car il a été établi que l'exposition des levures aux champs électriques pulsés permet l'extraction de protéines.

## Les protéines de macro-algues : une ressource trop peu exploitée

Maud Benoit,(1) Hélène Marfaing,(1) Yannick Lerat,(1) Cécile Le Guillard,(2) Régis Baron,(2) Jean-Pascal Bergé,(2) Mireille Cardinal.(2)

(1) Centre d'étude et de valorisation des algues, CEVA Pleubian, [maud.benoit@ceva.fr](mailto:maud.benoit@ceva.fr)

(2) STBM, IFREMER, Nantes

Actuellement les besoins en aliments composés en Europe, pour l'alimentation animale, s'élève à 950 million de tonnes. En 2050, ce besoin pourrait atteindre 1500 million de tonne. Pour faire face à cette demande, l'Europe importe actuellement 70 % de ses besoins protéiques, ce qui rend la communauté Européenne fortement dépendante. L'Amérique latine est notamment l'un des fournisseurs les plus importants pour ses larges ressources en protéines de soja. L'un des grands défis sociétaux de nos jours est donc d'acquérir une indépendance protéique par le biais de nouvelles sources de protéines incluant les macroalgues.

En effet, consommées depuis des siècles, certaines populations et en particulier des populations asiatiques exploitent les algues tel un aliment. Les fractions protéiques de quelques espèces sont présentées dans le tableau ci-dessous.(i)

<i>Laminaria and saccharina</i>	3-21 %
<i>Fucus</i>	5-17 %
<i>Ascophyllum</i>	5-12 %
<i>Sargassum</i>	9-20 %
<i>Ulva</i>	6-44 %
<i>Chondrus</i>	7-29 %
<i>Porphyra</i>	7-44 %
<i>Gracilaria</i>	5-23 %
<i>Palmaria</i>	8-35 %

*Teneur en protéine totale, par rapport au % matière sèche*

D'un point de vue sourcing, la production mondiale de macro-algues dépasse les 20 millions de tonnes d'algues brutes et provient essentiellement d'algoculture. En France, les macroalgues sauvages (l'algoculture étant balbutiante) sont largement utilisées comme matière première pour l'industrie, et notamment pour l'industrie des hydrocolloïdes.

Néanmoins, les procédés mis en place par cette industrie ne permettent pas d'exploiter toute la richesse de ces biomasses et particulièrement les protéines qui sont généralement détruites ou dénaturées lors du processus d'extraction des polysaccharides.

L'objet principal de cette collaboration CEVA-STBM vise à permettre une coextraction des différents composés d'intérêts contenus dans ces macroalgues. Pour cela nous mettons en place une stratégie de bioraffinage avec une fragmentation initiale de la paroi des macroalgues par hydrolyse enzymatique. Par ce moyen, nous pensons pouvoir contourner le problème de la faible digestibilité des protéines algales natives tout en préservant leur haute qualité nutritionnelle. Ces travaux devraient permettre à terme de maximiser l'utilisation des macroalgues en autorisant non seulement la valorisation de leurs polysaccharides, notamment les phycocolloïdes correspondant aux polysaccharides de haut poids moléculaire, mais également de leurs protéines relativement abondantes. Les macroalgues pourraient donc s'avérer être un des éléments de réponse face à la pénurie de protéines à finalité alimentation animale, mais également humaine. Ainsi les protéines marines Européenne pourraient être proposées comme une des alternatives aux tourteaux d'importation.

(i) S. Lovstad Holdt, S. Kraan, 2011, *J Appl. Phycol.*, 23:543-597

POSTER #R

---

## **Nouvelles approches de prétraitement et clarification des cultures cellulaires a haute densité**

**Pierre SCHELLING** - Merck Millipore

*Voir le résumé de la conférence, page 14.*

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

### **David-Alexandre BADAROU**

*David-Alexandre Badarou est titulaire d'un diplôme d'expertise en biotechnologie spécialisé dans la santé, obtenu à Sup'Biotech.*

*Il dispose de compétences en management de projets et d'équipes. Il a effectué des travaux sur :*

- l'optimisation de process en culture cellulaire.*
- la mise en place de laboratoire de contrôle-qualité et développement de méthodes analytiques d'anticorps monoclonaux.*

*Depuis 2013, il est ingénieur projet en biotechnologie chez Pharma Biot'Expert, au parc Biocitech. Il met à profit ses compétences pour des projets en ingénierie en bioproduction (Conception et Q/V en downstream process) et en contrôle-qualité (QbD).*

### **Sylvio BENGIO**

*Sylvio Bengio is responsible of scientific communications and biochromatography development at Pall Life Sciences, a leading international company in the life sciences industry ([www.pall.com](http://www.pall.com)). He received his Doctorate in Cellular and Molecular Biology at the University of Rouen, France, and conducted research in Cellular Immunology at the National Institute of Health and Medicine (INSERM).*

*Joining industry, Sylvio has occupied different management positions at Sepracor (Boston, Mass), Merck, Ciphergen Biosystems, BioSepra and Pall Life Sciences. He cumulates over 25 years experience in Biotechnology, with a specific focus on Chromatography and Therapeutic Protein Purification.*

*Dr. Bengio is a frequent speaker at various international bioproduction conferences and member of the scientific advisory board of various biotechnology organizations and Conference organizers (Bioprocess international, Adebitech France).*

### **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.*

## **Paul COLONNA**

*Directeur Scientifique adjoint Bioéconomie à l'INRA, Directeur de l'Institut Carnot 3BCar (bioénergies, biomolécules et biomatériaux du carbone renouvelable) qui associe l'INRA, le CNRS, le CIRAD, AgroParisTech, SupAgro, l'INSA de Toulouse et l'Université de Toulouse.*

*Professeur au Collège de France 2011-2012 sur la Chaire annuelle Développement Durable. Responsable de L'Atelier de Réflexion Prospective Quels végétaux et systèmes de production durables pour satisfaire les besoins en bioénergie, synthons et biomatériaux ? (Véga) conduit entre 2008 et 2012, en associant le CIRAD, l'IFPEN et l'INRA.*

## **Philippe DE BRAECKELAER**

*Philippe DE BRAECKELAER est actuellement Directeur Général Adjoint du CVG.*

*Il est titulaire d'un DESS CAAE Institut d'Administration des Entreprises - Université de Picardie Jules Verne et d'un DEA de Biologie et Physiologie Végétales Appliquées à l'utilisation des Plantes Cultivées (Université Paris VI Jussieu).*

## **Paul DE PAUW**

*Bio-engineer in '83 + MBA in '85 at Leuven University.*

*Employed by the current company in various sales functions over a period of 25 years.*

*Currently responsible for sales of Tereos-Syral's proteins and co-products as well as exports outside Europe.*

## **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 porcin, 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 af-fiches, 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*

### **Nicolas DUMEY**

*Dr DUMEY obtained a PhD in Virology, working on gene therapy mediated by viruses.*

*In 1998, he joined Texcell, a viral safety company, to set up the R&D department.*

*Since 2003, he took the position as VP Viral Safety in Texcell, supervising viral validation of biomanufacturing processes and viral safety testing of biopharmaceuticals.*

### **Johan GERROMS**

*Studies: Industrial Engineer Chemistry, Industrial Chemistry*

*1985-1997: Employed at Amylum, later Tate&Lyle; responsible for research and development in the field of raw materials, starches, modified starches, proteins and by-products*

*1997-1998: Employed at Vandemoortele; process development and engineering, and project engineering of edible oils and fats + baked or semi-baked goods*

*1998-2004: Employed at Remy Industries (rice starches and flours), later Beneo; responsible for research and development in the field of raw materials, starches, modified starches, proteins and by-products; plus QC and food law specialist*

*2004-2012: Employed at Inex (dairy producer); responsible for research and development, QC, complaint handling, questionnaires and food legislation*

*2012-now: Employed at Tereos Syral; responsible for product and process development in the field of raw materials, starches, syrups, polyols, maltodextrins, fermentations, modified starches, proteins and by-products*

*Lectures on starches, modified starches, rheology, dairy products, proteins, ...*

*Member of PhD-juries on starches and food microbiology*

### **Geneviève GÉSAN-GUIZIOU**

*1990 : Ingénieur Génie Chimique et DEA en Génie des Procédés Industriels, obtenus à l'Université Technologique de Compiègne (UTC)*

*1993 : Thèse portant sur la clarification du lactosérum par microfiltration (INRA, Rennes)*

*Depuis 1994, chercheur à l'INRA de Rennes (directeur de recherches depuis 2008). Recherches réalisées au Laboratoire de Recherches de Technologie Laitière devenu UMR Science et Technologie du Lait et de L'œuf en 2004.*

*Geneviève Gésan-Guiziou a animé jusqu'en 2013 une équipe du laboratoire s'intéressant aux procédés de concentration en industrie laitière (filtration, évaporation et séchage). Depuis 2013 elle anime une thématique de recherche autour de l'éco-conception des procédés de transformation laitière.*

*Geneviève Gésan-Guiziou est co-auteur de près de 50 articles scientifiques et 10 chapitres de livres.*

## **Hervé GINISTY**

*Depuis 2002, Hervé Ginisty est Directeur scientifique de GTP Technology. GTP est une société de services proposant des prestations scientifiques, techniques et d'accompagnement pour la production à façon des protéines recombinantes. Tout en maintenant une activité historique de production de protéines pour la recherche, la société se positionne aujourd'hui en tant que CMO non-GMP pour répondre à des besoins variés : développement de procédé pour des candidats thérapeutiques, production de protéines réactifs pour le diagnostic, production de matériel pour les études toxicologiques pendant le développement d'OGM, etc...*

*Dans le cadre de ses fonctions, Hervé a supervisé plusieurs centaines de projets de production de protéines recombinantes pour des applications à la fois recherche et industrielles.*

*Hervé possède un doctorat en biologie cellulaire et moléculaire de l'Institut de Pharmacologie et Biologie Structurale de Toulouse.*

## **Jean GUILLERM**

*Biopharma Process Expert*

*Des petites colonnes de laboratoires aux colonnes industrielles, de la cellule de concentration aux équipements de plusieurs dizaines de m2 de membranes, toute une vie professionnelle passée dans la chromatographie, la filtration et l'ultrafiltration.*

## **Margit HOLZER**

*Scientific Director Ulysse Consult*

*Dr. Margit Holzer has 20 years experiences in the development, project management, technology, production, business and quality of Pharmaceuticals and Biopharmaceuticals.*

*She holds a PhD in Biotechnology from the University of Natural Resources and Applied Life Sciences in Vienna, Austria.*

*Her professional career started in 1993 at Boehringer Ingelheim where she held several positions in the field of Biopharma (R&D, Production and Manufacturing Sciences) while working out of both the Vienna and Biberach facilities.*

*In 2003, she joined Novasep (a world leader in purification technologies) as Quality Director. After the successful FDA inspection end 2005, she returned to the field of Biopharma and created the Biopharma Business unit. In 2009 she took the position as R&D and Technology Director serving different markets (Food, Pharma & Biopharma). Since end of 2012 she is working at Ulysse Consult as Scientific Director.*

*Throughout of her career, she has been involved in the process development of more than 50 different biopharmaceuticals. Her work focused on developing new and innovative processes, products and systems that offer reduced manufacturing costs and development lead times.*

*Moreover, she has given numerous international lectures on the subject of Biopharmaceutical Process Development, Manufacturing and Quality.*

## **Olivier KITTEN**

*Centralien et biologiste, Olivier Kitten a successivement œuvré dans la recherche publique (Inserm, Recherches Hépatologiques et Thérapie Génique, doctorant), l'industrie Pharmaceutique (Rhône-Poulenc Rorer – Gencell, Viral vectors), la Start-up de biotechnologie (Atlangène Applications, tests génétiques) et enfin le soutien à l'innovation (Atlanpole), toujours dans les biotechnologies.*

*Olivier s'est associé aux inventeurs de la technologie des Nanofitines pour créer Affilogic en 2010.*

## **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 Claf 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.*

### **David LASCOUX**

*David LASCOUX a passé près de 15 années dans la recherche académiques avec notamment plusieurs années dédiées à la caractérisation structurale des protéines par spectrométrie de masse.*

*Depuis 5 ans, il travaille pour les fournisseurs d'instrumentation. Il occupe la fonction de Business Development Manager Biopharmaceutical and Proteomic depuis trois ans.*

### **Aline LECOQ**

*Aline LECOQ a intégré la société Roquette en tant qu'ingénieur procédés (au sein de la division étude des procédés du groupe) il y a 2 ans après avoir été diplômée de l'école des Hautes Etudes d'Ingénieurs (HEI) spécialisation chimie.*

### **Pierre LEPAGE**

*With a Chemist engineer degree and a Ph.D., Pierre Lepage started its career in research, as an expert in protein characterization, at Transgène and Marion Merrell Dow. In 2005, he joined Serono and managed a team to develop and validate state of the art analytical methods. Then, Pierre joined the Center of Expertise for Quality Control Systems where he improved method efficiency and implement a centralized management for QC laboratories. In the next steps of his career, Pierre has worked in Manufacturing and Technical Operations. He joined the center of expertise for Drug Substance, for Parenteral Product and for Biotech. Over 18 years' experience in Biopharmaceutical manufacturing, he brings its contribution to Merck Serono benefits in 4 main areas:*

*Product life cycle management through scientific expertise and comparability studies*

*Business continuity through capacity management, implementation of effective dual sourcing, risk management and disaster recovery plan in case of contamination*

*Operational excellence through cost reduction programs and process improvement as a Lean & Six Sigma certified Black Belt*

*Creation of synergy and new business opportunities by leading multi-cultural, multi-site and interdisciplinary teams and by proposing strategies compatible with the business and its constraints*

*In his last position, Pierre was Associate Director – Business Improvement – Center of Expertise Biotech. Currently in career transition, Pierre Lepage is looking for a leader position where he will be able to apply its scientific expertise and soft skills in the field of manufacturing, research and development, or analytical support. In particular he is highly interested by the application of the Quality By Design approach.*

### **Florence LUTIN**

*Responsable R & D - Eurodia Industrie SA – Pertuis France*

*Diplômée en 1987 de l'Université Paris XII et titulaire d'un doctorat en Physico-Chimie, Florence LUTIN choisit tout d'abord de poursuivre ses travaux de recherche au sein de l'Université Paris XII (ADEPCEB).*

*Désireuse d'acquérir une expérience internationale au sein d'un grand groupe spécialisé dans l'industrie chimique, elle démarre en 1989 un séjour postdoctoral dans le laboratoire de la société TOKUYAMA Corporation basée à Tokyo afin d'acquérir des compétences dans le domaine des membranes échangeuses d'ions.*

*A son retour du Japon, en 1991, elle prend en charge la responsabilité du laboratoire chez EURODIA Industrie, société spécialisée dans les procédés industriels de purification des fluides.*

*En tant que responsable de la Recherche et Développement depuis 2000, elle met en place de multiples partenariats scientifiques avec des laboratoires et des universités de renommée internationale (CNRS, INRA, Ecole Centrale Paris, ECUST Shanghai...) et participe ainsi à la mise au point de procédés avancés dans le domaine de la purification et de l'extraction. Aujourd'hui, une équipe de 6 personnes et 15 % du budget de fonctionnement sont consacrés à la recherche permanente d'innovations dans le respect de l'environnement.*

*Ainsi, tout en privilégiant une stratégie industrielle de long terme, Florence Lutin inscrit la chimie du végétal comme axe de développement stratégique chez Eurodia.*

## **Nathalie MANAUD**

*Dr. Nathalie MANAUD, Directrice opérationnelle du Consortium de Valorisation Thématique d'Aviesan depuis 2013.*

*Adjointe au Directeur de l'Institut Thématique Multi-organisme des Technologies pour la Santé créé au sein de l'Alliance Nationale pour les sciences de la vie et de la santé depuis janvier 2010.*

*Conseillère pour les sciences du vivant à la direction de la stratégie du CEA (2007-2009)*

*Assistante du Directeur en charge de la coordination des programmes, Direction des sciences du vivant du CEA (2004-2007)*

*Ancienne élève du magistère de biologie biochimie de l'ENS Ulm (1993), titulaire d'un doctorat en biologie moléculaire et biochimie de l'université Paris VI (1997), enseignante en biochimie à l'Université Paris Val de Marne (1993-1997).*

## **Sandrine MILESI**

*Directrice scientifique - Purifunction S.A.*

*Graduate of a French high school of Agronomy and Food Industry, Sandrine MILESI is an Engineer and a PhD specialized in natural active ingredients.*

*Since 15 years, Sandrine has been working in the research of plant secondary metabolites and then in the development of actives ingredients for the cosmetic and food supplement sectors, in particular in YVES ROCHER R&D department. She has to her credit various patents and publications in those sectors.*

*In November 2010, with industrial and financial shareholders, she established PURIFUNCTION, the R&D center specialized in extraction, purification and characterization of natural ingredients and processes associated. She is now the Scientific Director and CEO of this young promising company, that already have more than 30 development or R&D projects in cosmetic and food sectors.*

## **Vincent MONCHOIS**

*Vincent Monchois is R&D Director of the Biopharma Business Unit of Novasep.*

*He has more than 15 years of experience in USP and DSP process development and production from Research up to clinical development stages.*

*Since his Master Engineering degree (INSAT) and his PhD in Biology and Genetics Molecular and cellular in 1997, he developed High-throughput protein expression and engineering strategies with the objective to discover new antibodies for Aventis. He joined PX-Therapeutics (prev. protein expert) in 2002 as Director of Technological Development where he develops Protein engineering, USP (E. coli, yeast, CHO), and DSP strategies for Mab, vaccines and proteins up to clinical production. He joined Novasep in 2010 as RD and Pilot teams manager for industrial DSP development for Life Science Industries (Biopharma, Pharma and Industrial Biotech). He was also involved in numerous EC or ANR granted projects.*

## **Nicolas MOUZ**

*Nicolas Mouz co-founded in 2000 PX'Therapeutics (Protein'expert), a French biotechnological company based in Grenoble. PX'Therapeutics (PXT) is a contract research and manufacturing organisation dedicated to recombinant protein engineering and production. This company manufactures therapeutic proteins for clinical trials (phase I and II). Nicolas Mouz is the chief scientific officer and a board member of PXT. This company has a team of 40 people.*

*Nicolas co-founded in 2010 Promise Advanced Proteomics. He serves as president of the board of Promise Advanced Proteomics, a company dedicated to the absolute quantification of proteins mass spectrometry in complex samples. This technology allows conducting pharmacokinetic studies and speeding up the development of therapeutic proteins.*

*Nicolas was a project director and/or quality control director of 8 therapeutic products in human clinical trials.*

*PXT and Promise Advanced Proteomics have been acquired by the pharmaceutical company the Laboratoire Aguettant in October 2012.*

*He did his Ph.D at the Institute of Structural Biology Jean-Pierre Ebel (Grenoble, France) at the interface of biochemistry and protein crystallography. His research topic focused on the antibiotic resistance of bacteria. He*

*studied the clinical beta-lactam-resistant strains of Streptococcus pneumoniae and the Penicillin-binding proteins responsible of the antibiotic resistant of these strains.*

### **Michel NOGRÉ**

*Michel Nogr , LFB Biotechnologies en collaboration avec rEVO Biologics*

*A débuté sa carrière au CNTS en 1983 avec la mise en place des étapes de sécurisation et de purification des protéines dans les procédés du fractionnement du plasma. Il se spécialise dans la chromatographie des protéines, notamment des facteurs de la coagulation (FVIII, fibrinogène) en abordant tous les aspects du développement biopharmaceutique. Il devient responsable de laboratoire en charge du développement de procédé d'un lactorecombinant en 2011.*

### **Gérald PERRET**

*Titulaire d'un Doctorat en Biochimie et Biologie Moléculaire, mes travaux de thèse ont portés notamment sur des applications analytiques des Aptam res. 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 Aptam res, des technologies analytiques et de la chromatographie d'affinité.*

### **Hélène PORA**

*Hélène PORA est actuellement Vice-Président Single Use Systems chez PALL Life Sciences après avoir occupé plusieurs postes au sein du marketing. Elle est l'auteur de plusieurs articles traitant des systèmes à usage unique parus dans la presse spécialisée et participe régulièrement à des conférences sur ce sujet.*

### **Laurice POUVREAU**

*2009-present Project manager texture Employer: NIZO Food Research, Ede, The Netherlands Job description: Project manager in the Texture/flavour department with a focus on protein (plant proteins)*

*2012-2015 Project leader at TIFN: Food structuring. The project has the goal to develop knowledge on how to control and modify the behaviour of protein structure elements at different length scales in relation to the product macroscopic properties.*

*2011-2015 Scientist at TIFN Area: Relevant time & length scales for mechanical behavior of protein-based systems.*

*2010 Scientist at TIFN Area: "High-protein food project"*

*2007 – 2009 Post-doctoral researcher Project title: Bioethanol from wheat bran: a leapfrog forward*

*2004 – 2007 Post-doctoral researcher Project title: Characterization of nitric oxide reductases from multiple microbial origins*

*1999 – 2004 Ph.D. researcher Project title: Occurrence and physico-chemical properties of protease inhibitors from potato tuber (Solanum tuberosum)*

### **Amélie RAVENEAU**

*Amélie Raveneau a commencé sa collaboration avec Sartorius Stedim Biotech en 2008, en intégrant l'équipe française en tant qu'ingénieur d'application. Elle a ensuite étendu son secteur de travail à l'Europe du sud en 2010, puis à l'Europe en 2012. Elle a un rôle de support et de conseil envers les acteurs de l'industrie biopharmaceutique, dans le développement de leurs procédés de purification. Elle est spécialisée dans les techniques de polishing et de clearance virale, suivant l'évolution constante des technologies. Ses connaissances en purification des biomolécules viennent de sa formation, mais aussi de son implication directe avec différents partenaires de l'industrie biopharmaceutique. Amélie est ingénieure en biotechnologie et a suivi sa formation à l'Ecole Nationale Supérieure de Technologie des Biomolécules de Bordeaux (ENSTBB).*

## **Fabien ROUSSET**

*Dr. Fabien ROUSSET has 10 years of experience in the development, project management, technology in the field of Biopharmaceuticals. He holds a PhD in Chemistry and Polymer chemistry from the University of Paris, France. His professional career started in 2004 at BioSeptra where he held the position of project leader in the field of Biopharma (R&D) in Cergy, France. In 2005, he joined PALL Corporation (the world leader in filtration) as R&D manager. After 6 years of mixed mode, ion exchange and affinity resins development, he joined Novasep (a world leader in purification technologies) as Product/materials manager. Responsible of the technical support and the development of new product/technology, he took the Head of technology as Deputy Director in 2013. Moreover, he has given numerous international lectures on the subject of Biopharmaceutical process development and technologies.*

## **Xavier SANTARELLI**

*Xavier Santarelli est titulaire d'un Doctorat de Biophysique. Après un post doc à l'université Paris 13 & IBF ou il a développé un nouveau support de chromatographie, il a travaillé sur les procédés de bio- chromatographie chez SOREBIO. Il a ensuite rejoint l'Université ENSTBB ou il est Professeur.*

*Il est aussi :*

- *Créateur et Directeur Scientifique de BiotechDeva*
- *Expert Bio séparation OSEO (2006,2010), AERES (2010), ANR(2011)*
- *Président de la Société de BioChromatographie et Nanoséparations et a organisé de nombreux colloques scientifiques internationaux*
- *Créateur et organisateur de l'International Bioseparation Contest for Young Scientists in Protein Purification (2007, 2010, 2012).*

*Activités de recherche: Biochromatographie des protéines d'intérêt industriel, conception et évaluation de procédés de purification. Ses recherches se développent actuellement autour de trois axes. Fragments d'anticorps scFv et F(ab')<sub>2</sub> recombinants, Interaction protéine – ligand, identification des contaminants.*

## **Frédéric SCHAB**

*R&D Project Manager, NOVASEP Food, Functional Ingredient & Bio-Industry*

*Mr Schab graduated as a Chemical and Process Engineer, from the french Chemical Engineering national school ENSIC. He achieved a PhD in the field of electrochemical processes applied to the production of bio-based organic acids.*

*Mr Schab started with Novasep in 2004. Novasep is a process engineering company, specialized in purification. Novasep designs integrated processes combining technologies such as membrane filtration, chromatography, ion exchange, adsorption, electrodialysis, evaporation and crystallization.*

*Mr Schab's first role within Novasep was to conduct process development studies in the R&D team. Some of those works have been presented in various symposiums (Cal Poly Dairy, RRB...) or journals (IAA).*

*He then took the position of R&D Team Manager, with a focus on organizing lab and pilot studies for Novasep's customers.*

*After 9 years of R&D experience with Novasep, his current responsibility as R&D Project Manager is to build new purification processes adapted to emerging products in the fields of Food, Functional Ingredients and Bio-Industry.*

## **Pierre SCHELLING**

*Pierre SCHELLING rejoint Merck Millipore en Juin 2006 en tant que scientifique de développement de procédés (Process Development Scientist) du groupe « Biomanufacturing Sciences Network».*

*Son activité principale comporte des essais de faisabilité, d'optimisation ou de mise à l'échelle d'étapes de purification auprès de nos clients pour des médicaments issus des biotechnologies (anticorps monoclonaux, protéines recombinantes, antigènes et vaccins de différents genres) et des molécules thérapeutiques.*

*Les technologies couvertes sont la filtration frontale (clarification, pré-filtration, filtration stérilisante et filtration d'élimination de virus), la filtration tangentielle et la chromatographie.*

*Depuis Janvier 2011, il supervise une équipe de quatre personnes qui effectuent le même genre d'activités décrites ci-dessus dans la plupart des pays Européens.*

*Post-doctorant, group leader, Institut de Biochimie de l'Université de Tübingen (04/2005 – 05/2006) Supervision scientifique de post-doctorants, de doctorants et d'étudiants pour la production de protéines recombinantes à des fins de purification et d'étude de biologie structurale*

*Post-doctorant, Harvard Medical School & Mass General Hospital, Boston MA (01/2002 – 03/2005) Etudes de biologie structurale et purification d'adhésines virales et de récepteurs cellulaires dans l'équipe du professeur Thilo Stehle*

*Thèse de doctorat en sciences naturelles, Département de chimie pharmaceutique, Ecole Polytechnique Fédérale de Zurich (ETH) sous la supervision du Prof. Gerd Folkers (02/1998 – 12/2001) Etudes de biologie structurale et purification de différentes thymidine kinases virales*

*Examen de fin d'études Universitaires de Pharmacie, Université de Genève (12/1997)*

## **Jean-Luc SIMON**

*Ingénieur ENSAIA, Docteur en Biotechnologies et Sciences de l'aliment, Habilitation à diriger des recherches en Sciences alimentaires et Biotechnologies.*

*Professeur contractuel en Biotechnologies dans différentes universités françaises et organismes de formation professionnelle. Chairman de colloques sur les Biotechnologies. Rapporteur de thèses. Expert à l'Agence nationale de la recherche. Ex membre du Comité stratégique de l'ADEME.*

*Ex rédacteur en chef de la rubrique Biotechnologies de la revue « Techniques de l'Ingénieur ».*

*Président du Groupe Génie des Procédés Biotechnologiques et alimentaires de la Société française du Génie des procédés.*

*Vice-président du pôle de compétitivité Nutrition Santé Longévité du Nord Pas de Calais. Membre du pôle de compétitivité Goût Nutrition Vitagora de Dijon.*

*Membre du Comité scientifique du CNIEL (industries laitières), de l'Institut Carnot Qualiment, de la Commission recherches de l'ANIA, de la plateforme Food for Life France et d'Adebiotech.*

*Directeur de la Recherche et du Développement du groupe Ingredia, spécialiste des ingrédients fonctionnels et nutritionnels issus du lait, depuis 2009.*

*Directeur de la Recherche du Groupe Lesaffre, leader mondial des levures pour les applications alimentaires, nutraceutiques et les biocarburants, de 2001 à 2009.*

*Directeur des recherches en procédés de production d'ingrédients biologiques pour toutes applications hors Pharma chez Rhodia de 1993 à 2001.*

*Chef de projet de recherches en procédés biochimiques chez Rhône-Poulenc Santé de 1985 à 1991. animateur des recherches en procédés biochimiques de Rhône-Poulenc Rorer de 1991 à 1993.*

## **Mark SNYDER**

*Dr. Mark A. Snyder is Manager of the Process R&D Applications Group in the Process Chromatography Division of Bio-Rad Laboratories. He attended the Massachusetts Institute of Technology as an undergraduate, earning a bachelor's degree in biology and the Alpha Chi Sigma Prize in chemistry. Dr. Snyder received his Ph.D. in biochemistry at the University of California, Berkeley, with Dr. Daniel E. Koshland, Jr., and did post-doctoral work in molecular biology with Dr. J. Michael Bishop at the University of California, San Francisco. He spent five years at Scios (then California Biotechnology) on basic fibroblast growth factor cloning and purification, followed by four years as Manager of Process Development at XOMA.*

*Immediately prior to coming to Bio-Rad, Dr. Snyder spent thirteen years at Bayer HealthCare where he was Associate Director of Process Sciences in charge of the Purification Process Development Group. He led the team which developed and Bayer's current-generation recombinant Factor VIII purification process and transferred it into manufacturing. His team also successfully developed and implemented a variety of phase I-II purification processes for other protein therapeutics, some of which are currently in late-stage clinical trials. Dr. Snyder has also played significant roles in process troubleshooting and optimization, process improvements, process validation, viral clearance studies and comparability protocol execution, and in authoring license application CMC sections and inspection responses. His work has been published in numerous peer-reviewed journals and oral presentations.*

## **Véronique SOLÉ**

*Ingénieur d'études, Responsable du plateau Purification de protéines, INRA de Nantes, unité BIA*

*Spécialiste en biochimie, Véronique SOLÉ a acquis une expérience solide en production et purification de protéines recombinantes.*

*Diplômée du master Expression génique et protéines recombinantes de l'université Paul Sabatier de Toulouse, elle a été recrutée à l'Inserm U892 à Nantes dans l'équipe de Y. Jacques et pendant 5 ans, elle a principalement travaillé sur la mise au point et la validation d'un système de production, puis de purification de cytokines d'intérêt thérapeutique.*

*Par la suite, elle a participé à un projet de production et purification de différentes protéines, candidats biomarqueurs de pathologies liées au rejet de greffe rénale pour la mise en place d'un test diagnostique dans l'équipe de B. Vanhove (Inserm U643, Nantes).*

*Depuis 2010, Véronique SOLÉ est responsable du plateau purification de protéines de l'unité BIA à l'Inra de Nantes. Le plateau a pour vocation de purifier des protéines à partir de matières premières naturelles ou exprimées de façon hétérologue dans différents types d'hôtes. Ces protéines purifiées sont utilisées pour l'étude des relations structure - fonction, qu'il s'agisse de propriétés techno-fonctionnelles ou d'activité enzymatique ou biologique.*

## **Oliver TRIEBSCH**

*Oliver has more than 16 years of experience in purification, filtration and separation technologies in the pharmaceutical industry. In his current responsibility as Director Global Market Management and Global Product Manager Virus Safety at Pall Corporation and is in frequent contact with the pharmaceutical industry worldwide.*

## **Rémi URBAIN**

*Rémi Urbain est 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'École 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 a rejoint en 2005 le groupe LFB (Laboratoire français du Fractionnement et des Biotechnologies), où il est responsable de la politique de partenariats public/privé pour l'ensemble du groupe et pilote les activités d'innovation thérapeutique.*

*Rémi Urbain est Président de Adebitech, administrateur du pôle de compétitivité Médicen Paris Région, et membre de la commission « Valorisation » de l'ARIIS.*

## **Christian VALENTIN**

*M. Christian Valentin a occupé de nombreux postes à responsabilité au sein de l'organisation R&D de SANOFI PASTEUR, la division vaccin du groupe Sanofi.*

*Il a animé de nombreuses équipes en tant que chef projet en produits et technologies innovantes, et comme manager de plateformes procédés de formulation et développement analytique.*

*Il est actuellement directeur adjoint exécutif du département R&D des bioprocédés.*

*Christian Valentin est également membre du groupe technique du pôle de compétitivité Lyon Bio pôle, apportant son expertise à l'évaluation et labellisation de projets collaboratifs innovants.*

*Christian Valentin est fortement impliqué dans la mise en place et le développement du concept de Quality by Design et des outils du PAT appliqués à développement des produits de biotechnologie et des vaccins.*

### **Camille VIOT**

*Titulaire d'un doctorat en Chimie des Sucres obtenu au sein du laboratoire des Glucides de l'UPJV, Camille VIOT a intégré le CVG en 2007 en tant que Chef de projets R&D.*

*Actuellement Responsable du laboratoire, elle participe également au développement de technologies innovantes telles que les ultrasons ou l'électrodialyse membranaire.*

### **Arnaud VONARBURG**

*Arnaud Vonarburg est "Field Application Scientist" pour Pall FortéBio.*

*Il a obtenu une Maîtrise en Biologie à l'Université de Dijon et un Doctorat en Sciences Pharmaceutiques à l'Université d'Angers.*

*Il travailla au siège des Laboratoires Pierre Fabre à Castres comme Assistant R&D de la Direction, avant d'intégrer le Centre d'immunologie Pierre Fabre, à St Julien en Genevois, en tant que Responsable du transfert technologique en Biotechnologies.*

### **Yasmine ZOUICHA**

*Titulaire d'un diplôme de docteur-ingénieur en biologie moléculaire et cellulaire, Yasmine ZOUICHA a occupé différents postes de chef de produit, responsable de laboratoire, chef des ventes.*

*Elle est actuellement responsable marketing de la division BioPharmaceuticals de PALL Life Sciences.*



## ***Sponsors***

---

**eKope**

**LFB Biotechnologies**

**Novasep**

**Pall Live Sciences**

**Tereos Syral**





Services & Solutions Cleantech

## Assemblages à usage unique



- Production US en salle propre iso7
- Assemblage toutes marques et tous produits (poches, connecteurs, tubulures, capteurs, procédés downstream, capsules filtrantes, aiguilles, ...)
- USP class VI, animal free
- Stérilisation par  $\gamma$ -irradiation
- E & L selon BPSA et ICHQ9

## Filtration et purification

### **ZenPure**



La capsule qui garantit  
le zéro "hold-up volume"  
sans dilution !

- La plus large gamme de capsules et cartouches de filtration
- Médias filtrants en PVDF, PES, PE, PP, PTFE, N66, ...

167, avenue Lyautey  
F-06000 NICE  
France



Tel : +33 (0)4 92 000 864  
info@ekope.com  
www.ekope.com





Le Groupe LFB ([www.lfb.fr](http://www.lfb.fr)) est un groupe biopharmaceutique français qui développe, fabrique et commercialise des biomédicaments, médicaments dérivés du plasma et protéines recombinantes, indiqués dans la prise en charge de pathologies graves et souvent rares dans des domaines thérapeutiques majeurs :

- l'immunologie
- l'hémostase
- les soins intensifs

Numéro un en France dans le domaine des médicaments dérivés du plasma, et 5ème groupe dans le monde, le Groupe LFB est également la première entreprise de biotechnologies française et une des entreprises européennes leaders dans le développement d'anticorps monoclonaux et de protéines de nouvelle génération issues des biotechnologies.

Avec 1900 collaborateurs et 465 M€ de CA en 2012, Le Groupe LFB met en œuvre une stratégie de croissance, axée notamment sur le développement de ses activités à l'international (25% du CA).

En amont, sa filiale LFB Biotechnologies, qui porte les activités de recherche-développement du groupe, a pour missions d'alimenter le portefeuille du groupe soit en nouveaux produits plasmatiques et recombinants, soit en nouveaux procédés.

LFB Biotechnologies a notamment mis en place une plateforme de bioprocédés innovants, destinée à développer les technologies de purification de protéines, afin d'augmenter les rendements pour générer de la valeur ajoutée, tout en améliorant la pureté et la sécurité biologique des produits du groupe.

## **Contacts**

*Patrick SANTAMBIEN*  
*Directeur de l'Innovation Technologiques*  
*LFB BIOTECHNOLOGIES*  
*3 avenue des Tropiques, 91958 Les Ulis cedex*  
*[santambien@lfb.fr](mailto:santambien@lfb.fr)*

*Rémi URBAIN*  
*Directeur des Partenariats Scientifiques*  
*LFB BIOTECHNOLOGIES*  
*3 avenue des Tropiques, 91958 Les Ulis cedex*  
*[urbain@lfb.fr](mailto:urbain@lfb.fr)*



## Une gamme complète de technologies et services pour la purification industrielle de protéines

Des solutions pour les industries biopharmaceutiques, agro-alimentaire et de biotechnologies



Service de purification à façon - Colonne Prochrom® LC300

Services de **développement et d'optimisation de procédés** de purification

Services de **production et purification à façon** à l'échelle du développement ou commerciale

**Equipements et lignes de procédés performants**

**Filtration tangentielle:** systèmes et membranes organiques et céramiques

**Chromatographie basse pression** batch ou continue: capture d'affinité, échange d'ion, adsorption...

**Résine protéine A** pour la capture de mAbs

**Chromatographie haute pression** pour la purification de biomolécules

Electrodialyse, évaporation et cristallisation



Unité d'échange d'ion pour l'industrie laitière



[novasep@novasep.com](mailto:novasep@novasep.com)





*Pall Corporation (NYSE:PLL) est un leader de la filtration, de la séparation et de la purification qui fournit des solutions capables de répondre aux besoins critiques de ses clients en matière de gestion des liquides dans tout l'éventail de l'industrie des sciences de la vie. Pall travaille aux côtés de ses clients pour faire progresser les technologies de santé de manière sécurisée et écologiquement responsable. Les produits conçus par la société favorisent l'innovation des processus et des produits tout en minimisant les émissions et les déchets.*

*Plus particulièrement Pall Life Sciences fournit des produits et des services de pointe pour répondre à la demande des clients pour la découverte, le développement et la production des médicaments issus des biotechnologies, des vaccins, ou des produits pharmaceutiques classiques. Les produits et systèmes Pall optimisent la détection, la préparation d'échantillons pour la recherche de médicament, les diagnostics, les marchés de la génomique et de la protéomique. Pall est leader dans la fourniture de systèmes de séparation et de technologies de filtration et purification à usage unique pour les industries pharmaceutiques et biotechnologiques pour soutenir le développement de nouveaux médicaments et vaccins qui sont plus sûrs et nécessitent moins d'énergie et d'eau pour leur production. Les technologies Pall Life Sciences sont aussi utilisées dans les industries agro-alimentaires.*

*Lors ce colloque les spécialistes Pall Life Sciences présenteront plusieurs sujets dont la rétention virale, la caractérisation des protéines sans marquage le criblage à haut débit des supports chromatographiques et les aspects réglementaires et environnementaux de l'usage unique. Certains d'entre-eux présenteront des posters scientifiques et animeront les tables rondes. Ils vous accueilleront sur leur stand pour discuter plus en détails de vos besoins.*

[www.pall.com](http://www.pall.com)

*Pall Corporation. Pall et sont des marques commerciales de Pall Corporation.*





### **Tereos Syral reveals the potential of cereals...**

Tereos Syral est la filiale céréalière de Tereos, groupe agro-industriel coopératif spécialisé dans la première transformation de la betterave, de la canne et des céréales. Fort de ses 41 sites de production et 26 000 salariés, Tereos, 4<sup>e</sup> sucrier mondial, a réalisé en 2012 un chiffre d'affaires de 5 milliards d'euros.

Tereos Syral est le troisième producteur européen de produits amylacés issus de la transformation de quatre matières premières (blé, maïs, manioc et pomme de terre) au sein de ses 12 usines. Avec des ventes de 1,9 Mt/an (amidons et dérivés, alcools et protéines) à destination des industries de l'alimentation, de la pharmacie, de la chimie du végétal, de la nutrition animale, de la cosmétique et du papier carton, l'entreprise de 1 800 collaborateurs réalise un chiffre d'affaires de 1,8 Md€.

Tereos Syral investit dans son outil industriel européen et développe ses gammes de produits, notamment dans les secteurs alimentaire et pharmaceutique. L'objectif stratégique de Tereos Syral est de capitaliser sur son savoir-faire acquis en Europe pour consolider et développer ses positions européennes mais aussi pour aller chercher la croissance des marchés amylacés dans les zones du monde où elle est la plus forte, au Brésil et en Chine.

Tereos Syral met l'innovation, l'amélioration de ses produits et de ses services et l'adaptation de son outil au centre de sa démarche de satisfaction client. Tereos Syral place le client au cœur de ses développements et y consacre des moyens importants. En donnant la priorité aux besoins exprimés par les clients dans le cadre de sa politique Innovation et Qualité, Tereos Syral peut adapter ses produits et ses procédés industriels et anticiper l'évolution des marchés.

*Stands*

---

**3M**

**BIO-RAD**

  
eKope

 **PALL** Life Sciences

 **sartorius stedim**  
biotech

 **WYATT**  
TECHNOLOGY

# Liste des Participants

A la date d'impression du livret

Mary	ALEXIS	UTPM
Elise	ASSOULY	STALLERGENES
Cécile	ATTALI	BIO-RAD
Thierry	AZOULAY	WYATT TECHNOLOGY
David-Alexandre	BADAROU	PHARMA BIOT'EXPERT
Lucie	BEGUIN	IFTS
Mourad	BELHOUT	GENTHON BIOPROD
Sylvio	BENGIO	PALL LIFE SCIENCES
Jean-Paul	BENOIT	PALL LIFE SCIENCES
Maud	BENOIT	CEVA
Yves	BENOIT	IFP ENERGIES NOUVELLES
Lise	BESNARD	MERCK MILLIPORE
Benoit	BIGOT	FLOTTWEG FRANCE
Michèle	BOITEL	UNIVERSITÉ DE PICARDIE JULES VERNE
Véronique	BONNIER	IDMER
Fabienne	BOSSARD	CARGILL
Emmanuel	BOUCHER	COPALIS
Jacques	BOUILLARD	INERIS
Fabrice	BOUILLENNE	UNIVERSITÉ DE LIÈGE
Philippe	BRIDONNEAU	GENTICEL
Virginie	BROCHIER	PALL LIFE SCIENCES
Jean Marc	BROSSE	BIO-RAD
François	BUCHE	INSTITUT POLYTECHNIQUE LASALLE
Amélie	BUGEON	LESAFFRE INTERNATIONAL
Stéphanie	BUREAU	ROQUETTE FRÈRES
Charline	CACHEUX	SANOFI
Pierric	CHALOIS	BIOPRACTIS
Jean-Vincent	CHANTREAU	IRELAND BLYTH LIMITED
Marie	CHAPUIS	MERCK MILLIPORE
Virginie	CHARTON	GATTEFOSSÉ
Sophie	CHAUVET	SANOFI
Denis	CHÉREAU	TEREOS SYRAL
Frédéric	CHEVIRON	BIOSOLVE CHIMIE
Nathalie	CLAISSE	BIOLIE
Christine	CLEMENT	SANOFI
Paul	COLONNA	INRA
Audrey	COUSINET	PIERRE FABRE
Joelle	CRISTOFANI	GE HEALTHCARE LIFE SCIENCES
Stéphane	CYMERYS	OLYGOSE
Michel	DANA	SILAB
Philippe	DE BRAECKELAER	CVG
Imanol	DE CHERISEY	CHAMTOR
Paul	DE PAUW	TEREOS SYRAL
Eldra	DELANNAY	PURIFUNCTION
Charles	DELANNOY	PROCIDYS
François	DELBAERE	OLYGOSE

Olivier.....	DELMAS.....	INERIS
Sandrine.....	DEREUX.....	PÔLE DE COMPÉTITIVITÉ IAR
Pascal.....	DHULSTER.....	LABORATOIRE PROBIOGEM
Yoan.....	DRILLET.....	COOPERL ARC ATLANTIQUE
Frédéric.....	DUBOR.....	TEBU-BIO
Jacques.....	DUMAS.....	SANOFI
Nicolas.....	DUMEY.....	TEXCELL
Frédérique.....	DURANTON.....	ONIRIS
Francis.....	EDOUARD.....	PALL LIFE SCIENCES
Théo.....	EFSTATHIOU.....	SOJASUN TECHNOLOGIES
Paul.....	FERRARI.....	SANOFI
Stéphane.....	FOURNEAUX.....	SANOFI
Guillaume.....	FOURRIER.....	BIO-RAD
Cédric.....	FRIBAULT.....	PIERRE FABRE
Jean-Pierre.....	GADONNA.....	INSTITUT POLYTECHNIQUE LASALLE
Fabrice.....	GASCONS VILADOMAT.....	EDERNA
Bertrand.....	GATEFIN.....	IMT INDUSTRIES
Johan.....	GEEROMS.....	TEREOS SYRAL
Pascale.....	GERIN.....	GE HEALTHCARE LIFE SCIENCES
Geneviève.....	GÉSAN-GUIZIOU.....	INRA
Hervé.....	GINISTY.....	GTP TECHNOLOGY
Laurent.....	GROSPÉLLEY.....	TAMI INDUSTRIES
Isabelle.....	GROSSI.....	ARTELIA BÂTIMENT & INDUSTRIE
Thomas.....	GUARINONI.....	PALL LIFE SCIENCES
Stéphanie.....	GUEBHARD.....	STALLERGENES
Stéphanie.....	GUEPRATTE.....	ALFA LAVAL SAS
Daniel.....	GUEZ.....	ES FRANCE
Mélanie.....	GUILLEMINAULT.....	DBV TECHNOLOGIES
Jean.....	GUILLERM.....	NOVASEP
Jean-Dominique.....	GUITTON.....	SANOFI
Frédéric.....	HAMMEL.....	ACCINOV
Sylvain.....	HENRY.....	SAFIC ALCAN
Antonine.....	HEZARD.....	INGREDIA
Margit.....	HOLZER.....	ULYSSE CONSULT
Séverine.....	HOUNTONDJI.....	GTP TECHNOLOGY
Stéphane.....	ITART-LONGUEVILLE.....	LABORATOIRES SPECTRUM
Vignesh.....	JANAKIRAMAN.....	UNIVERSITÉ BORDEAUX SEGALEN
Sébastien.....	JUBEAU.....	ALGOSOURCE TECHNOLOGIES
Romain.....	KAPEL.....	LRGP-UMR CNRS 7274
Olivier.....	KERBARH.....	DBV TECHNOLOGIES
Abdel.....	KHADIR.....	EKOPE
Sihame.....	KHOUKH.....	DBV TECHNOLOGIES
Olivier.....	KITTEN.....	AFFILOGIC
Fabienne.....	LAMBROUIN.....	INRA
Philippe.....	LANCIAL.....	SARTORIUS STEDIM BIOTECH
Danielle.....	LANDO.....	ADEBIOTECH
David.....	LASCOUX.....	WATERS
Jérôme.....	LAVENS.....	CHAMTOR
François.....	LAWNY.....	TRISKEL SA
Christel.....	LE BON.....	CNRS UMR 7099

Aude.....	LE GALL.....	INSTITUT DE RECHERCHES SERVIER
Aline.....	LECOCQ.....	ROQUETTE FRÈRES
Nadine.....	LECONTE.....	INRA
Sébastien.....	LEFEBVRE.....	BIO-RAD VERDOT
Jean-Pierre.....	LEFEVRE.....	PALL LIFE SCIENCES
Pierre.....	LEPAGE.....	EXPERT INDUSTRIEL
Jean-Baptiste.....	LEROY.....	BETA TECH
Régis.....	LEVALLOIS.....	AQUATIV DIANA
Karine.....	LIEVRE.....	LABORATOIRE ALK
Charles Henri.....	LIGNET.....	ROYAL CANIN
Florence.....	LUTIN.....	EURODIA INDUSTRIE
Nicolas.....	MAIGROT.....	IRELAND BLYTH LIMITED
Marielle.....	MAILHES.....	BPIFRANCE
Nathalie.....	MANAUD.....	AVIESAN
Philippe.....	MARLIERE.....	GLOBAL BIOENERGIES
Sylvie.....	MERCIER.....	RD-BIOTECH
Christine.....	MERLE.....	PROTEODYNAMICS
Samir.....	MEZDOUR.....	AGROPARISTECH
Nadine.....	MICHOT.....	SANOFI
Matthieu.....	MIESCH.....	MERCK MILLIPORE
Jacques.....	MIETTON.....	MERIAL SANTÉ ANIMALE
Nicolas.....	MIGNARD.....	WYATT TECHNOLOGY
Sandrine.....	MILESI.....	PURIFUNCTION
Patrick.....	MOLLAT.....	GALAPAGOS
Vincent.....	MONCHOIS.....	NOVASEP
Nicolas.....	MOUZ.....	PX'THERAPEUTICS
Angélique.....	MULARONI.....	UNIVERSITE LYON 1
Michel.....	NOGRÉ.....	LFB BIOTECHNOLOGIES
France.....	NORMAND PLESSIER.....	BASE BIOTECHNOLOGIE FRANCE
Françoise.....	OUARNE.....	INSA CRITT BIO-INDUSTRIES
Mohamed.....	OUHAMMOUCH.....	LFB BIOTECHNOLOGIES
Marie-Isabelle.....	PENET.....	SANOFI
Luisa.....	PERAZA.....	EKOPE
Gérald.....	PERRET.....	LFB BIOTECHNOLOGIES
Sylvain.....	PEYRACHE.....	ACCINOV
Pierre-Emmanuel.....	POIZAT.....	3M
Hélène.....	PORA.....	PALL LIFE SCIENCES
Delphine.....	PORTES.....	BIOTECHDEVA
Laurence.....	POTTIER.....	ONIRIS
Laurice.....	POUVREAU.....	NIZO FOOD RESEARCH
Steven.....	QUENTZEL.....	STEVEN QUENTZEL, INC.
Joao.....	RAMOS.....	EKOPE
Vincent.....	RAVAUX.....	PALL LIFE SCIENCES
Amélie.....	RAVENEAU.....	SARTORIUS STEDIM FRANCE
Stéphanie.....	RECORDA.....	3M
Mohammed Ikbal.....	RIFKI.....	GENETHON
Vincent.....	RIVERA.....	IDBIOTECH
François.....	ROLIN.....	CHANGEXPLORER
Alix.....	ROUSSEAUX.....	ARD
Fabien.....	ROUSSET.....	NOVASEP

Patrick.....	SANTAMBIEN.....	LFB BIOTECHNOLOGIES
Xavier.....	SANTARELLI.....	ENSTBB/IPB & SBCN
Frédéric.....	SCHAB.....	NOVASEP
Pierre.....	SHELLING.....	MERCK MILLIPORE
Alice.....	SEGER.....	TERRENA LUP'INGREDIENTS
Thibaut.....	SERAIN.....	SARTORIUS STEDIM BIOTECH
Anne.....	SEVERAC.....	SANOFI
Jean-Luc.....	SIMON.....	INGREDIA
Mark A.....	SNYDER.....	BIO-RAD
Véronique.....	SOLÉ.....	INRA
Sylvain.....	SOPENA.....	GE HEALTHCARE LIFE SCIENCES
Catherine.....	SOULIE.....	SILAB
Patrick.....	STEFANIC.....	UNIVERSITÉ DE LIÈGE
Gilles.....	STIEN.....	LESAFFRE INTERNATIONAL
Laurence.....	TALBOT.....	BIO-RAD
Justin.....	TEISSIE.....	CNRS
Daniel.....	THOMAS.....	UTC COMPIÈGNE
Sylvain.....	TOSTAIN.....	SAIPOL
Magali.....	TOUEILLE.....	PALL LIFE SCIENCES
Oliver.....	TRIEBSCH.....	PALL LIFE SCIENCES
Véronique.....	TROCHON-JOSEPH.....	BIOALLIANCE PHARMA
Isabelle.....	TURBICA.....	UNIVERSITÉ PARIS-SUD
Rémi.....	URBAIN.....	ADEBIOTECH / LFB BIOTECHNOLOGIES
Christian.....	VALENTIN.....	SANOFI PASTEUR
Philippe.....	VERNOT.....	BIO-RAD VERDOT
Marie-Jo.....	VILLEGAS.....	ARROWMAN EXECUTIVE SEARCH
Camille.....	VIOT.....	CVG
Arnaud.....	VONARBURG.....	PALL - FORTÉBIO
Ariane.....	VOYATZAKIS.....	BPIFRANCE
Anais.....	VUILLEQUEZ.....	OLYGOSE
Yasmine.....	ZOUICHA.....	PALL LIFE SCIENCES