

**DOCTORAT DE L'UNIVERSITE DE LILLE 1 SCIENCES ET TECHNOLOGIES**

**N° d'ordre : 42249**

**NOM/PRENOM DU CANDIDAT : ANDRÉ Silvère**

Ecole doctorale : Sciences de la Matière, du Rayonnement et de l'Environnement (ED SMRE - 104)

Laboratoire : Laboratoire de Spectrochimie Infrarouge et Raman (LASIR, UMR 8516)

Discipline : Optique, Lasers, Physico-Chimie et Atmosphère

**JURY :**

- Directeurs de thèse : Ludovic DUPONCHEL (Directeur)  
Olivier DEVOS (Co-encadrant)
- Rapporteurs : Annie MARC (Directeur de Recherche CNRS, Université de Lorraine)  
Ganesh D. SOCKALINGUM (Professeur, Université de Reims Champagne-Ardenne)
- Examineurs : Philippe JACQUES (Professeur, Université de Liège)  
Yves LIJOUR (Maître de conférences, Université de Bretagne Occidentale)  
Cyril RUCKEBUSCH (Président, Professeur, Université de Lille)
- Invités : Éric CALVOSA (Chef d'unité, société Sanofi Pasteur)  
Zahia HANNAS (Chef d'unité, société Merial)

**SOUTENANCE : le 6 décembre 2016, à 14 h, Amphi APPERT (Polytech Lille)**

**TITRE DE LA THÈSE :**

Apports de la spectroscopie Raman et de la chimiométrie au suivi *in situ* de cultures cellulaires : nouvelles perspectives en biotechnologie

**RÉSUMÉ :**

Dans les années 2000, les grandes instances de sécurité sanitaire ont proposé l'initiative PAT (*Process Analytical Technology*) pour inciter les acteurs des milieux pharmaceutiques et agroalimentaires à améliorer leurs méthodes de production et de contrôle des produits manufacturés en utilisant de nouvelles techniques innovantes. Cette thèse s'inscrit dans cette démarche et propose d'exploiter la spectroscopie Raman, couplée aux outils chimiométriques pour le suivi en temps réel de cultures cellulaires à visée pharmaceutique. Acquis à l'aide d'une sonde optique à immersion, les spectres Raman *in situ* permettent de bénéficier d'une vue d'ensemble de l'état biochimique du bioprocédé au cours du temps. Ainsi, en appliquant des outils chimiométriques adéquats, il est possible de tirer profit des informations spectrales générées, notamment pour prédire les concentrations métaboliques au cours du temps.

Les travaux de recherche présentés dans cette thèse proposent tout d'abord de démontrer la nécessité d'optimiser l'acquisition spectrale et le traitement statistique des données pour différentes cultures cellulaires. Des modèles de régression robustes intégrant plusieurs sources de variabilité sont alors développés. Ils prennent en compte les variations inter-cultures, les changements de paramètres « procédés », le repositionnement des sondes optiques, voire le changement de lignée cellulaire. Enfin, ces mêmes spectres Raman sont utilisés pour développer des outils de contrôle statistique des procédés afin de détecter en temps réel des états anormaux comme par exemple la contamination ou encore pour prédire la concentration d'un produit d'intérêt comme les anticorps.

**DOCTORAT DE L'UNIVERSITE DE LILLE 1 SCIENCES ET TECHNOLOGIES****N° order : 42249****NAME/SURNAME OF THE CANDIDATE : ANDRÉ Silvère**

Doctoral School : Sciences de la Matière, du Rayonnement et de l'Environnement (ED SMRE - 104)

Laboratory : Laboratoire de Spectrochimie Infrarouge et Raman (LASUR, UMR 8516)

Discipline : Optique, Lasers, Physico-Chimie et Atmosphère

**THESIS COMMITTEE :**

- Thesis supervisors: Ludovic DUPONCHEL (Director)  
Olivier DEVOS (Co-supervisor)
- Referees: Annie MARC (Director of Research CNRS, University of Lorraine)  
Ganesh D. SOCKALINGUM (Professor, University of Reims Champagne-Ardenne)
- Examiners: Philippe JACQUES (Professor, University of Liege)  
Yves LIJOUR (Lecturer, University of Brest)  
Cyril RUCKEBUSCH (President, Professor, University of Lille)
- Guests: Éric CALVOSA (Head of unit, Sanofi Pasteur company)  
Zahia HANNAS (Head of unit, Merial company)

**DEFENSE : December 6<sup>th</sup> 2016, at 2 PM, Amphi APPERT (Polytech Lille)****TITLE OF THE THESIS :**Contributions of Raman spectroscopy and chemometrics to *in situ* cell culture monitoring:  
new perspectives in biotechnology**ABSTRACT :**

In the 2000s, the major sanitary safety authorities proposed the Process Analytical Technology initiative (PAT) encouraging pharmaceutical and agri-food industries to enhance their own processes and the control of manufacturing products by using new and innovative techniques. This thesis is directly related to this framework and proposes to use Raman spectroscopy, coupled to chemometric tools, to monitor cell cultures for pharmaceutical purposes. The *in situ* Raman spectra, acquired using an optical immersion probe, allow getting an overview of the biochemical state of the process in time. Thus, by applying the appropriate chemometric methods, it is possible to obtain biological information from the spectra, including the prediction of metabolite concentrations throughout the cultures.

The research work presented here proposes to highlight the necessity to optimize spectral acquisition and statistical preprocessing of the data provided by different cell cultures. Then, robust regression models are developed, taking into account different sources of variability, such as inter-cultures variations, process parameters changes, optical probe repositioning and cell line variations. Finally, these spectra are used to determine the antibody concentration during the culture and to develop new tools for statistical process control of the batches. In this way, any abnormal behavior such as contamination can be detected.