

Réalisation de prestations portant sur la bioconjugaison et l'évaluation *in vivo* de candidats médicaments de type ADCs dans le cadre du projet C-VALO/SNA Ab Omega

Lot n° 1 - Prestations d'optimisation de protocole de production et production de FDCs pour une évaluation *in vivo*

**Cahier des clauses techniques particulières
(CCTP)**

SOMMAIRE

1. OBJET DE LA PRESTATION.....	2
2. CONTEXTE DES PRESTATIONS.....	3
3. CONDITIONS DE RÉALISATION DES PRESTATIONS	3
4. DESCRIPTION DES EQUIPEMENTS ATTENDUS	6
5. GARANTIE ET SERVICE APRES-VENTE	6

Sélectionner le sommaire, appuyer sur la touche F9 (ou Fn+F9) pour mettre à jour la numérotation des pages.

1. OBJET DE LA PRESTATION

■ Objet de la prestation :

Le contrat porte sur les prestations suivantes :

Prestations portant sur la bioconjugaison et l'évaluation *in vivo* de candidats médicaments de type ADCs

Il correspond au lot n° 1 de l'appel d'offre :

Lot	intitulé
Lot n° 1	Prestations d'optimisation de protocole de production et production de FDCs pour une évaluation <i>in vivo</i>
Lot n° 2	Prestation d'évaluation <i>in vivo</i> de FDCs

■ Intervenants :

Les prestations sont réalisées pour le compte de l'acheteur **Université de Tours**, Etablissement public à caractère scientifique, culturel et professionnel, représenté par son Président.

Adresse et coordonnées :

Université de Tours - BP 12050
60 rue du Plat D'Étain
Tours
37020 Tours Cedex 1

Téléphone : 02 47 36 66 00
Courriel : commande-publique@univ-tours.fr
Site internet : www.univ-tours.fr

■ Structure et forme du contrat

La forme retenue pour l'exécution du contrat est **ordinaire**.

2. CONDITIONS DE RÉALISATION DES PRESTATIONS

■ Normes et réglementation applicables :

Sans objet

3. CONTEXTE ET DESCRIPTION DES PRESTATIONS ATTENDUES

■ Contexte de réalisation des prestations :

L'utilisation d'anticorps monoclonaux conjugués à des molécules cytotoxiques et ciblant des antigènes tumoraux a déjà fait ses preuves dans la lutte contre le cancer, comme en témoigne le nombre croissant en Antibody-Drug Conjugates (ADC) avec Autorisation de Mise sur le Marché (AMM). Aujourd'hui, l'ensemble des ADC approuvés sont conçus à partir du format anticorps entier type IgG1 et la quasi-totalité des innovations sur les ADCs concerne la chimie. Ce design médicamenteux est associé à de nombreux effets indésirables médiés par la dégradation de la chimie ainsi que l'interaction aux récepteurs FcRn et FcγR.

L'utilisation de formats alternatifs dérivés de l'anticorps promet d'abroger les problèmes de toxicité (en s'affranchissant notamment du Fc). Les conjugués développés par l'acheteur, à partir de fragments d'anticorps, ciblent un antigène d'intérêt présent à la surface de certains cancers.

Il a été développé plusieurs formats de fragment d'anticorps, contenant tous des cystéines accessibles pour la bioconjugaison site-spécifique. Il a précédemment été investigué la réactivité de ces positions et la faisabilité de conjugaison jusqu'à un Drug-to-Antibody Ratio important *via* Deruxtecan pour générer des Fragment-Drug Conjugates (FDCs).

■ Lieu de réalisation des prestations :

Les prestations seront localisées dans les locaux du prestataire.

■ Description des prestations attendues :

L'objectif de la prestation est double :

(i) identifier rapidement un protocole de bioconjugaison optimisé pour le greffage de Deruxtecan (Chimie de l'ADC Enhertu®) sur des fragments d'anticorps à DAR homogènes afin de maximiser le rendement de production de conjugués.

L'hydrophobicité est un point hautement critique pour la faisabilité et la stabilité des conjugués; une vraie expertise et savoir-faire de la part du prestataire sont attendus.

(ii) produire des quantités de conjugués adaptées pour la conduite d'études pré-cliniques pour dix candidats.

Pour la réalisation des prestations, les spécifications techniques suivantes s'appliquent :

1) La commande de linker-payload Deruxtecan sera assuré par l'acheteur avant d'être expédié au prestataire en même temps que les protéines d'intérêts.

2) Identification d'un protocole optimisé.

Le prestataire devra réaliser la mise au point du protocole de bioconjugaison afin d'avoir un **DAR homogène (2, 4 ou 8)**, mais surtout afin de **maximiser le rendement** de production de conjugués, la faisabilité ayant déjà été évaluée au laboratoire.

L'optimisation se fera sur un candidat*, possiblement, sur différents niveaux :

**Si la mise au point s'avère concluante avec un nombre restreint d'essais, le protocole pourra être évalué sur un deuxième candidat avec possiblement un ajustement du protocole.*

- (i) **Anticorps** : le fragment (candidat 1) pourra être fourni en quantité, formulé en PBS ou dans un **tampon de formulation préconisée par le prestataire** ; la concentration et le volume du fragment pourra se faire en fonction des recommandations du Prestataire.
- (ii) **Bioconjugaison** : l'optimisation du protocole de bioconjugaison du Deruxtecan sur le candidat 1 se fera suivant **l'expertise du prestataire** avec, comme objectif, de limiter au maximum l'apparition d'une agrégation. Le prestataire doit être moteur des optimisations de protocole (choix des tampons, temps de réaction, températures d'incubations, nombres d'équivalents en agent réducteur et « linker-payload »). Le risque est l'apparition d'agrégats au cours de la réaction de bioconjugaison, et il est important d'identifier des conditions permettant de limiter les agrégats et donc d'obtenir un rendement maximal (ratio entre quantité de conjugué produit versus natif).
- (iii) **Purification** : la purification pourra se faire suivant **l'expertise du prestataire, et en concertation avec l'acheteur**, avec l'objectif de purifier uniquement le fragment conjugué (et d'éliminer les composants de la réaction de bioconjugaison). La purification pourra concerner, suivant les fragments, l'entièreté des fragments conjugués ou la fraction monomérique (les profils de chromatographie des fragments natifs seront fournis). Cette étape clef devra être discutée en amont avec l'acheteur.

Les produits de bioconjugaison brutes pourront être centrifugés pour éliminer les agrégats avant purification.
- (iv) **Concentration** : La concentration ciblée des conjugués pour l'étude pré-clinique est d'environ 10 µM. Cette concentration peut être obtenue directement après purification ou après concentration. Le choix est laissé à **l'appréciation du prestataire**.
- (v) **Formulation** : le fragment conjugué pourra être formulé selon **l'expertise du prestataire**, en respectant le fait que le produit final puisse être injecté chez la souris par voie intrapéritonéale.
- (vi) **Stérilisation** : Le fragment conjugué devra être filtré.
- (vii) **Stockage** : Le stockage privilégié est à +4°C.

Livrable

- (i) Suivi des absorbances (280, 340, 370 nm) des fragments non conjugués (étape de préparation) et après chaque étape de la préparation des conjugués (après purification et après filtration). [Fichier Excel : lecture UV – Chromatogramme (purification)].

Une photo de la turbidité des vials avant et après bioconjugaison pourra être réalisée.

- (ii) Calcul des rendements au moins après la purification et après la filtration. [Fichier Excel].

L'objectif est d'obtenir un rendement, après purification, de 80% (le rendement correspondant à la quantité d'anticorps conjugué, après purification, par rapport à la quantité d'anticorps natif) et de 60% minimum après filtration.

- (iii) Les produits de bioconjugaison purifiés seront caractérisés par analyses de spectrométrie de masse par chromatographie en phase liquide (LC-MS) et par analyse HIC (Hydrophobic Interaction Chromatography) ou phase reverse chromatography.
- (iv) Les produits de bioconjugaison purifiés filtrés seront expédiés à l'adresse de l'acheteur dans le respect de la réglementation du transport de matériel biologique.
- (v) Dossier technique décrivant le protocole optimisé de bioconjugaison et comprenant tous les éléments permettant à l'acheteur de mettre en œuvre ledit procédé.

3) Préparation des lots pré-cliniques.

Dix candidats sont à produire à la vue d'une expérimentation animal (souris) de régression tumorale. La dose stérile à préparer, pour l'expérimentation *in vivo*, est **de 8 ml à 8 µM** pour chaque candidat. Ceci correspond, par conjugué, à 40 doses (4 injections à 10 souris) de 200µl. La référence est l'ADC Enhertu® qui sera utilisé à 10 mg/kg, soit en équivalent molaire à 8 µM. Afin de comparer au mieux les fragments *in vivo*, il est crucial de considérer la molarité et non la concentration massique. (Les epsilons et les masses moléculaires seront fournis).

A titre indicatif, il faut entre 4 à 6 mg pour chaque candidat.

Pour des analyses en interne, il est également souhaité de récupérer l'excédent de production (**au moins 0,7 ml à 8µM**).

L'objectif est donc de produire les dix candidats selon le protocole optimisé préalablement mis au point. Une étude de mise à l'échelle serait d'intérêt avec la possibilité que les rendements de production de conjugués sur chaque candidat ne soit pas identique.

Les fragments d'anticorps et le DXd seront fournis en conséquence.

Après une première mise à l'échelle, et des résultats peu concluants (rendement de purification inférieure à 50%), l'Acheteur se réserve le droit d'arrêter un ou plusieurs candidats (avec pour conséquence une révision du prix).

Livrable

- (i) Suivi des absorbances (280, 340, 370 nm) des fragments non conjugués (étape de préparation) et après chaque étape de la préparation des conjugués (après purification et après filtration). [Fichier Excel : lecture UV – Chromatogramme (purification)].

Une photo de la turbidité des vials avant et après bioconjugaison pourra être réalisée.

- (ii) Calcul des rendements au moins après la purification et après la filtration. [Fichier Excel].

- (iii) Les produits de bioconjugaison purifiés seront caractérisés par analyses de spectrométrie de masse par chromatographie en phase liquide (LC-MS) et par analyse HIC (Hydrophobic Interaction Chromatography) ou phase reverse chromatography.
- (iv) Les produits de bioconjugaison purifiés filtrés seront expédiés à l'adresse de l'acheteur ou à un prestataire subséquent en charge de la conduite de l'étude de la régression tumorale en modèle murin, dans le respect de la réglementation du transport de matériel biologique.

4) Un suivi des avancées sera réalisé par réunion hebdomadaire entre l'acheteur et l'équipe projet affectée par le prestataire. En cas de nécessité, des échanges quotidiens pourront être envisagés.

5) Une coordination avec le prestataire « Expérimentation *in vivo* » est importante afin que les lots de candidats médicaments à tester, stockés à +4°C, soient utilisés relativement rapidement. Ces derniers pourront être ainsi injectés 1 mois après production.

Suivant l'avancée du projet, la première injection pourra être réalisée entre début juillet et début septembre.

6) Un bilan complet des résultats de l'expérimentation sera fourni par le prestataire à mi-parcours et à la fin de l'essai.

Les frais d'envoi seront pris en charge par l'acheteur.

4. GARANTIE

Garantie : Les prestations ne font pas l'objet d'une garantie.

5. PENALITES

Le titulaire s'engage dans sa proposition sur des délais de réalisation des prestations.

En cas de dépassement des délais, il sera fait application des pénalités définies au Cahier des clauses administratives particulières (CCAP).