

Laboratoire d'accueil : Laboratoire de Spectrométrie de Masse Bio-Organique de l'IPHC (LSMBO-DSA-IPHC, CNRS UMR 7178-Université de Strasbourg)

Contact : Sarah Cianférani ; email : sarah.cianferani@unistra.fr ; Tél : 03 68 85 26 79

Sujet de Master : Caractérisation conformationnelle d'anticorps monoclonaux thérapeutiques par spectrométrie de masse structurale (échange hydrogène/deutérium, SM native et pontage chimique)

Résumé et objectifs :

Ces 15 dernières années les anticorps monoclonaux (mAbs) et dérivés (biosimilaires) ont démontré leur efficacité thérapeutique et constituent la classe de principes actifs qui connaît le plus fort taux de développement actuel dans le domaine biotechnologique et pharmaceutique (1). Plus récemment une nouvelle classe de molécules, les anticorps immunoconjugués (encore appelés ADC pour Antibody-Drug-Conjugates) ont fait leur apparition sur le marché et rencontrent un succès grandissant, notamment en oncologie (2). Ces composés sont constitués d'un couplage covalent entre un agent cytotoxique et un mAb. Cette association drogue/mAb permet de conférer à des drogues (trop toxiques pour une utilisation en solo) une sélectivité pour les cellules tumorales, tout en renforçant l'activité anti-tumorale du mAb.

La caractérisation structurale des mAbs et ADCs reste délicate du fait de leur complexité, de leur hétérogénéité et de la flexibilité de la région charnière de l'anticorps. Aujourd'hui moins d'une dizaine de structures de mAbs ou produits dérivés est contenue dans la PDB (Protein Data Bank). Parmi toutes les techniques biophysiques, la SM s'est imposée comme une méthode de référence pour la caractérisation des protéines recombinantes, et plus particulièrement des mAbs.

Développements méthodologiques en SM structurale:

Le LSMBO a acquis une solide expérience dans la caractérisation des mAbs et ADCs par SM native (3-5). Dans le cadre de ce projet de master, nous souhaitons évaluer les possibilités des approches de spectrométrie de masse structurale dite de marquage (échange H/D ou pontage chimiques suivis par SM) pour obtenir des informations structurales sur des mAbs thérapeutiques. Ces approches permettent de déterminer les zones d'interactions (6) ou d'étudier la conformation (7) des différents des protéines seules ou en complexe. L'approche HDX-SM a déjà été utilisée avec succès au laboratoire pour l'étude des zones d'interactions entre des anticorps thérapeutiques et de leurs antigènes associés (8). Ceci nous a permis de déterminer les épitopes alors qu'il reste encore très difficile de cristalliser ce type de complexes.

L'objectif de ce stage de master est d'évaluer les possibilités de l'approche HDX-SM et de pontage chimique pour détecter des changements de conformations très fins mettant en jeu des anticorps de structures très proches (ex : IgG4 et IgG4 stabilisé dans la région hinge ; anticorps monoclonal greffé et non greffé). Ce travail se fera en collaboration avec le Dr. Alain Beck (Centre d'Immunologie Pierre Fabre, Saint-Julien-en-Genevois).

Références

- 1) Beck A. et al. Nature Reviews Immunology (2010), 10, 345.
- 2) Ornes S. Antibody-drug conjugates. Proc Natl Acad Sci USA, 2013, 110, 13695.
- 3) Debaene F. et al. Innovative native MS methodologies for antibody drug conjugate characterization: High resolution native MS and IM-MS for average DAR and DAR distribution assessment. Anal. Chem. 2014, 86, 10674.
- 4) Ehkirch A et al. Hyphenation of size exclusion chromatography to native ion mobility mass spectrometry for the analytical characterization of therapeutic antibodies and related products. J Chromatogr B (2018), 1086, 176-183.
- 5) Ehkirch A et al. An Online Four-Dimensional HICxSEC-IMxMS Methodology for Proof-of-Concept Characterization of Antibody Drug Conjugates. Anal Chem. (2018), 90, 1578-1586.
- 6) Engen J., Analysis of protein conformation and dynamics by HDX-MS, Anal. Chem. (2009), 81, 7870-7875.
- 7) Houde D. et al., The utility of HDX-MS in biopharmaceutical comparability studies, J. Pharm. Sciences (2011), 100, 2071-2086.
- 8) Terral G. et al. Epitope characterization of anti-JAM-A antibodies using orthogonal mass spectrometry and surface plasmon resonance approaches. MAbs. (2017), 9, 1317-1326