

Masterarbeit

Proteinaufreinigung mittels Flüssig-Flüssig-Chromatographie

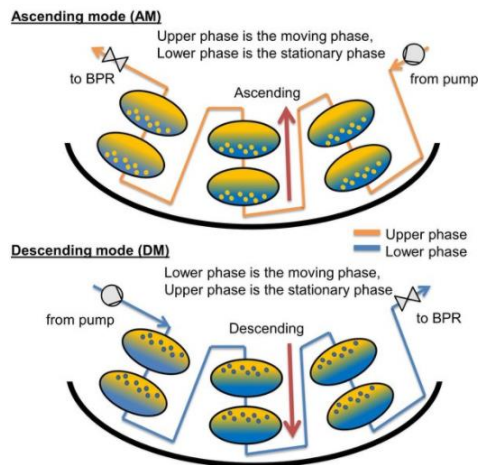


Abbildung 1: Schema einer CPC im aufsteigenden bzw. absteigenden Modus (Örkényi 2017).

Zentrifugale Verteilungschromatographie (CPC) ist eine Form der Flüssig-Flüssig-Chromatographie (LLC) und eine alternative Technologie zur Proteinaufreinigung mittels wässriger Zweiphasensysteme (engl. Aqueous two-phase systems, ATPSs). In LLC sind sowohl die stationäre als auch mobile Phase flüssig, die Trennung von Proteinen aus einer Mischung wird erreicht durch deren unterschiedliche Verteilung zwischen den zwei Phasen des ATPS [1]. Die Verwendung von Flüssig-Flüssig-chromatographie zur Aufreinigung von Makromolekülen (z.B. Proteine) wurde bisher nur wenig untersucht, hauptsächlich aufgrund der Herausforderung geeignete Zweiphasensysteme zu finden.

Ziel dieser Arbeit ist die Aufreinigung von Proteinen mit einer vielversprechenden, fortschrittlichen Trenntechnik. Dies beinhaltet das Screening und die Wahl von ATPSs bestehend aus Polyethylenglykol (PEG) und Salzen zur Trennung von Proteinen aus Mischungen. Des Weiteren sollen geeignete Prozessparameter zum Betrieb der CPC gewählt werden und Experimente durchgeführt werden. Unsere Gruppe ist weltweit führend im modellbasierten Design von LLC-Prozessen. Ein Teil der Arbeit beinhaltet daher auch die Simulation der CPC-Prozesse mit einem bereits bestehenden Modell (z.B. Gleichgewichtszellenmodell). Die Prozessperformance wird abschließend hinsichtlich Reinheit, Ausbeute, Produktivität und Lösungsmittelverbrauch evaluiert.

Methoden und Geräte:

- Vorbereitung von wässrigen Zweiphasensystemen (ATPS) und Messung der Verteilungskoeffizienten von Komponenten
- Zentrifugale Verteilungschromatographie (CPC)
- Größenausschlusschromatographie (Size exclusion chromatography, SEC)
- MATLAB / Python

Voraussetzungen:

Generelles Interesse an Downstream-Processing (von Proteinen) sowie organisiertes, selbständiges Arbeiten sind wünschenswert. Die Arbeit kann auf Deutsch oder Englisch erstellt werden. Nach erfolgreichem Abschließen der Masterarbeit besteht die Möglichkeit an Flüssig-Flüssigchromatographie im Rahmen einer Promotion weiterzuarbeiten.

Start: Ab sofort.

Kontakt: Dr. pharm. Vlad Luca / Melanie Gerigk, M.Sc.

Tel.: 08161 71 6227 / 08161 71 6171

E-Mail: vlad.luca@tum.de / melanie.gerigk@tum.de

[1] M.R. Almeida, F. Ferreira, P. Domingues, J. A. P. Coutinho, M.G. Freire, Towards the purification of IgY from egg yolk by centrifugal partition chromatography, Sep. Purif. Technol. 299 (2022) 121697. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2022.121697>.

Master's thesis

Liquid-Liquid Chromatography Separation of Proteins: A model-based approach

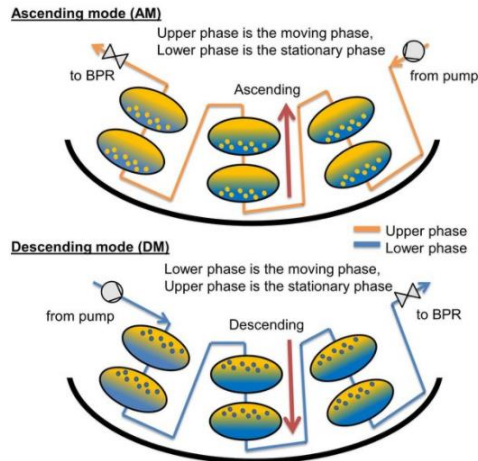


Figure 1: Scheme of a CPC in ascending and descending modes (Örkényi 2017).

Centrifugal partition chromatography (CPC) is a form of liquid-liquid chromatography (LLC) and an alternative technology for protein separation using aqueous two-phase systems (ATPS). In LLC, both stationary and mobile phases are liquid, and the separation of proteins from a mixture is achieved due to the different partitioning of the different proteins between the phases of the ATPS [1]. The use of LLC to proteins has been only briefly investigated, mainly due to the challenges in finding suitable ATPS.

The aim of this thesis is to separate proteins with an advanced and promising technology. This contains the screening and selection of biphasic solvent systems (e.g., ATPSs) consisting of polyethylene glycol (PEG) and salt for the separation of protein mixtures. Furthermore, LLC processes will be designed and performed. Our group is one of the leading groups in the model-based design of LLC processes. Thus, the LLC processes will be simulated using an already available chromatographic model (e.g., equilibrium-cell model). The separation performances will be evaluated with regard to purity, yield, productivity, and solvent consumption.

Methods, software, and devices:

- Preparation of aqueous two-phase systems (ATPS) and measurement of the components' partition coefficients
- Centrifugal partition chromatography (CPC)
- Size exclusion chromatography (SEC)
- MATLAB / Python

Requirements:

General interest in downstream processes and programming (with MATLAB or Python), organized and independent work is desirable. The thesis can be written in English or German.

There is a possibility to start the Ph.D. in LLC after a successful master's thesis.

Start: From now on.

Contact: Dr. pharm. Vlad Luca / Melanie Gerigk, M.Sc.

Phone: 08161 71 6227 / 08161 71 6171

E-Mail: vlad.luca@tum.de / melanie.gerigk@tum.de

[1] M.R. Almeida, F. Ferreira, P. Domingues, J. A. P. Coutinho, M.G. Freire, Towards the purification of IgY from egg yolk by centrifugal partition chromatography, Sep. Purif. Technol. 299 (2022) 121697. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2022.121697>.