Examensarbete 20 p vid Analytical Sciences Biovitrum Stockholm.
Michael Wouda, Russom Tseggai & Åsa Dahlbäck, 2007-06-12

Avdelningen Analytical Sciences (AS) söker en examensarbetare för framtagning av generiska asymmetric flow ***field flow fractionation*** *(A4F) metoder för kommersiella proteiner av olika molekylstorlekar, optimering av befintlig projektspecifik A4F metod samt utvärdering med faktorförsök av A4F metodutvecklingsparametrar. Framtagna generiska metoder jämförs slutligen i en korrelationsstudie med separationstekniker som dynamic light scattering (DLS), size-exclusion high performance liquid chromatography (SE-HPLC) och, om möjligt, med historiska data från analytical ultracentrifugation (AUC). En mindre studie utförs möjligen i samarbete med tysk leverantör.*

Biovitrum Biopharmaceuticals är en organisation fokuserad på utveckling av produktionsprocesser, inklusive tillverkning, för biofarmaceutiska läkemedel åt externa kunder. AS har ansvar för att utveckla och validera/kvalificera metoder för analys och karaktärisering av rekombinanta proteiner.

Bakgrund
A4F tillhör familjen FFF. För separationstekniken A4F läggs ett vätskeflöde som ett fält tvärs över en kanal. Diffusion tillsammans med Brownska rörelser gör att mindre partiklar (hög diffusionshastighet) når jämviktspositionen högre upp i kanalen där det longitudinella flödet är högre. Hastighetsgradienten inne i kanalen separerar därmed partiklar av olika storlek, där små partiklar transporteras snabbare genom kanalen än stora partiklarna. Tekniken upptäcktes i slutet av 60-talet av J.C. Giddings men upptäckten kom i skymundan för utvecklingen av HPLC och CE. Första FFF-applikationen på proteiner utfördes av Prof. Karin Caldwell (1972). FFF separerar molekyler men även partiklar och detta med en upplösning jämförbar med SE-HPLC och AUC och med ett stort dynamiskt område (från några nanometer upp till flera mikrometer). A4F kan kopplas till detektorer som UV, refractive index (RI) och multi-angle-light-scattering (MALS) för molekylviktsbestämningar.

Mål
Inom AS används teknikerna A4F, A4F/MALS, SE-HPLC, SE-HPLC/MALS samt DLS, vid processutveckling, stabilitetsstudier, metodkvalificeringar, utredningar mm. A4F-MALS är en teknik som, inom AS, är lämplig då t.ex. proteinaggregat utvärderas. För att på ett effektivt sätt kunna utvärdera proteinaggregat inom ett projekt är det av stor vikt att generiska metoder för olika proteinstorlekar genereras samt att metodutvecklingsparamterar som ”spacer thickness and wideness i.e. channel size, cross flows, gradients, sample loads, membranes” utvärderas och sammanställs för att effektivisera metodutveckling/metodoptimeringsarbetet. En befintlig generisk metod har inom AS utvecklats för ett specifikt projekt och önskemål finns från projektet att denna metod optimeras. FFF har som nämnts funnits sedan 60-talet men kommersiellt är detta en ny teknik och inom AS eftersträvas ett underlag för prestanda (kvalificeringsdata som t.ex. selektivitet och robusthet) när det gäller A4F jämfört med teknikerna SE-HPLC, DLS samt AUC. Ett dylikt underlag underlättar vid val av teknik samt då kriterium sätts vid en metodkvalificering. En mindre studie kan, i mån av tid, även utför i enlighet med leverantören för A4F tekniken. Examensarbetet kommer att utföras med stöd från flera olika handledare i en mycket trevlig atmosfär och det är, i examensarbetets slutskede, önskvärt att erfarenheterna sammanställs och redovisas muntligt och i rapportform.

Preliminärt förslag på omfattning och delmål

1. Start: September 2007 (målsättning)
2. Allmän introduktion, litteraturstudier, implementering av säkerhetsrutiner, inköp av kommersiella proteiner.
3. Inlärning av olika mjukvaror, instrument samt laboratorierutiner.
4. Utvärdering (möjligen i form av faktorförsök) av separationsparametrar inklusive sammanställning i t.ex. tabellformat.
5. Framtagning av generiska A4F metoder inklusive enkel sammanställning.
6. Avstämning: Mindre presentation. Möjlighet för korrigering av tidplan.
7. Korrelationsstudier av generiska A4F metoder mot DLS, SE-HPLC och AUC.
8. Optimering av befintlig generisk metod.
9. Mindre studie i samråd med leverantör.
10. Sammanställ rapport
11. Sammanställa muntlig presentation
12. Klart: Januari/Febrauri 2008 (target)

Önskvärd kravprofil

- Intresse för separationskemi/proteinkemi/kromatografi
- Noggrann
- Visst intresse av att jobba med olika mjukvaror

Kontaktpersoner

- Michael Wouda, övergripande handledare tel. 08-6973191, michael.wouda@biovitrum.com
- Russom Tseggai, handledare, tel. 08-6972887, 070-415 1415 russom.tseggai@biovitrum.com
- Åsa Dahlbäck, sektionschef, tel. 08-6973086, asa.dahlback@biovitrum.com

OBS. Kontaktpersonerna kan vara svåra att nå V.28-32 p.g.a. semester