

Białka bioaktywne o wysokiej czystości są obecnie niezbędne w diagnostyce biomedycznej i zastosowaniach terapeutycznych. Rosnący popyt na takie białka na świecie powoduje zapotrzebowanie na ekonomiczny i szybki sposób ich wytwarzania. Białka o takich właściwościach powinny stać się dostępne także dla krajów o niskich i średnich dochodach, aby one również mogły korzystać z postępu współczesnej medycyny. Czyste, rekombinowane białka są również potrzebne jako suplementy diety i alternatywne składniki odżywcze pochodzenia niezwierzęcego.

Celem projektu Concrys jest opracowanie nowej metody wydzielenia i oczyszczania białek rekombinowanych opartej na krystalizacji, umożliwiającej produkcję białek w sposób zrównoważony i wydajny, przy znacznie tańszej ekonomice w porównaniu z technologią chromatografii, której zastosowanie jest obecnie wymagane w celu osiągnięcia limitów jakościowych. Procesy chromatograficzne są wysoce selektywne, ale często stanowią wąskie gardło oraz czynnik kosztogenny całej produkcji ze względu na niską wydajność oraz wysoką cenę żywic chromatograficznych. Zaletami krystalizacji są niskie koszty, wysoka wydajność i sprawność oczyszczania. Białka są często strukturalnie niestabilne, szczególnie gdy są przechowywane w roztworze. Natomiast można je z powodzeniem przechowywać w postaci krystalicznej przez długi okres. Pozwala to na zmniejszenie kosztów przechowywania i uzyskanie dłuższego okresu trwałości w porównaniu z konwencjonalnymi technikami formulacji. Niemniej jednak rozwój krystalizacji białek na skalę masową jest wciąż na wczesnym etapie; proces ten nie jest operacją rutynową. Wynika to ze złożoności form białka w równowadze ciec-ciało stałe oraz różnorodności faz gęstych, jakie mogą powstawać, a także złożonego mechanizmu ich powstawania, na który wpływa szereg parametrów. Dlatego obecnie projektowanie krystalizacji białek w dużej części opiera się na metodzie prób i błędów, a jej wyników nie można zastosować w przypadku innych typów białek. Proces krystalizacji zazwyczaj prowadzi się okresowo w krystalizatorach z mieszadłem, gdzie zarodkowanie i wzrost kryształów białka jest indukowany w obecności czynnika krystalizującego. Taki sposób prowadzenia procesu ma ograniczenia związane z niedoskonałym wymieszaniem roztworu białka i czynnika krystalizującego, co powoduje powstanie dużego przesylenia roztworu na granicy faz. Wywołuje to ryzyko wytrącenia białka w postaci amorficznej lub tworzenia się nieaktywnych agregatów białkowych. Z kolei zbyt intensywne mieszanie powoduje powstanie dużych naprężeń ścinających, które hamują wzrost kryształów białka. Ponadto proces krystalizacji obarczony jest trudnościami w kontroli parametrów eksploatacyjnych, brakuje w niej także skutecznych procedur projektowych. Dlatego grupa badawcza Politechniki Rzeszowskiej (PRz) opracowała koncepcję krystalizacji z wymuszoną konwekcją (FCC), jako alternatywę dla stosowanych obecnie technik krystalizacji. W tym procesie pożądane warunki krystalizacji osiąga się poprzez kontrolowane usuwanie wody z roztworu białka w łagodnych warunkach temperaturowych. Do tej pory proces ten był realizowany wyłącznie w sposób okresowy w skali laboratoryjnej, bez możliwości jego zastosowania w produkcji przemysłowej. W ramach Concrys koncepcja FCC zostanie rozszerzona na tryb ciągły (CFCC), w którym mieszadło mechaniczne zostanie zastąpione śrubą Archimedesą, która zapewni skuteczne i jednocześnie łagodne warunki mieszania. Potencjał procesu CFCC opiera się na jego efektywnym połączeniu z produkcją białek rekombinowanych w ciągłej hodowli komórek bakteryjnych (CRPP). Zintegrowana operacja ciągła przewyższy stosowane do tej pory procesy okresowe pod względem najważniejszych wskaźników, takich jak stabilność struktury białka, wydajność i produktywność. Jak dotąd nie udało się zrealizować CRPP ze względu na inherentną niestabilność linii komórkowych *E. coli* używanych do otrzymywania białek. W ramach Concrys na Uniwersytecie we Wiedniu (BOKU) zostanie opracowana nowa technologia oparta na produkcji białek oddzielonej od wzrostu, dzięki której możliwe będzie ciągłe wytwarzanie białek przy użyciu niedrogiej pożywki hodowlanej. W trakcie realizacji Concrys opracowane będą ramy projektowania procesu CFCC i jego integracja z CRPP. Projektowanie będzie opierać się na szczegółowym modelu dynamiki procesu, który zostanie opracowany przez zespół badawczy z Uniwersytetu w Magdeburgu (OVGU). Model będzie uwzględniał najważniejsze zjawiska mające wpływ na proces: wymianę masy i ciepła, warunki hydrodynamiczne, termodynamikę i kinetykę krystalizacji oraz rozkład wielkości kryształów. Model i procedurę jego kalibracji będzie można zaadoptować do różnych białek po uwzględnieniu specyfiki mechanizmu ich krystalizacji. Realizacja projektu przyniesie kolejną ważną korzyść, jaką będzie pogłębienie wiedzy na temat mechanizmu krystalizacji białek, który nie jest dobrze poznany. Aby osiągnąć te cele, w projekcie połączy się wiedzę specjalistyczną z zakresu inżynierii chemicznej PRz (wiedza procesowa w zakresie krystalizacji białek), BOKU (znajomość technologii ekspresji bakteryjnej) i OVGU (wiedza w zakresie modelowania złożonych procesów technologicznych).