41/53903661/EF/02/26 Los 1 FPLC-Anlage

Leistungskriterien: Chromatographiesystem zur säulenbasierten Reinigung von Proteinen und anderen Biomolekülen

Das Institut für Pharmazie der Universität Greifswald beabsichtigt die Anschaffung eines Chromatographiesystems zur säulenbasierten Reinigung von Proteinen und anderen Biomolekülen inklusive Steuerungs- und Bedienungssoftware.

Das Chromatographiesystem zur säulenbasierten Reinigung von Proteinen und anderen Biomolekülen inklusive Steuerungs- und Bedienungssoftware muss geeignet sein für den Betrieb mit Chromatographiesäulen im Bettvolumenbereich von mindestens 1 ml bis ca. 120 ml. Es muss die Verwendung vorhandener Chromatographiesäulen ermöglichen, insbesondere von Säulen mit M6- bzw. 1/16" Anschlüssen. Sämtliche medienberührende Komponenten müssen aus chemikalienfesten Materialien bestehen und für den bestimmungsgemäßen Betrieb mit wässrigen Puffern von pH 2 bis pH 12 geeignet sein. Ferner muss das System seltene Beaufschlagungen mit organischen Lösungsmitteln, Acetonitril sowie insbesondere Alkohole, standhalten. Das System muss mittels anorganischer (insbesondere NaOH, HCl) und organischer Lösungen (vorrangig alkoholische Lösungen) zu reinigen sein. Alle angebotenen Komponenten müssen gemeinsam ein voll funktionsfähiges, betriebsbereites Chromatographiesystem ergeben. Das System sollte ein möglichst energieeffizientes Design aufweisen.

Aufgrund des begrenzten Laborplatzes ist es unbedingt erforderlich, dass folgende Maße von 580mm x 650mm x 480mm (BxHxT) für das Hauptgerät nicht überschritten werden.

Ein Puffereinlassventil, das den Wechsel zwischen Puffer, Reinigungslösungen und Proben ermöglicht, ist erforderlich. Die Auswahl von zwei Puffer A Eingängen und zwei Puffer B Eingängen in einem Ventil muss ebenfalls gegeben sein, dabei sollte jeder Eingang A mit Eingang B kombiniert werden können zur Erzeugung von Gradienten.

Gefordert ist ein Systempumpenmodul mit 2 unabhängig steuerbaren Pumpen, d.h. 2 Doppelkolbenpumpen mit Kolbenhinterspülung, mit einem Durchflussbereich von ca. 0,001 ml/min bis mind. 25 ml/min mit Gradientenbetrieb, max. Betriebsdruck ca. 20 MPa und einem Säulenpackmodus ("Double-flow-mode") mit erhöhtem Durchfluss von bis zu 50 ml/min.

Wie oben erwähnt, muss das System ein integriertes Kolbenhinterspülsystem zur Spülung der Pumpenkolbendichtung und zur Reduktion von Salz- und Pufferablagerungen an den Dichtungen enthalten.

Ein Systemdrucksensor ist notwendig, um die Messung des Gesamtdrucks des Systems hinter den Pumpen zu ermöglichen.

Eine Mischkammer muss das System ebenfalls aufweisen. Dieser Hochdruckmischer muss ein Mischvolumen von < 1.5 ml zur effizienten Durchmischung der von den Systempumpen geförderten Eluenten vor Eintritt in das chromatographische System ermöglichen.

Enthalten sein, muss außerdem eine Probenpumpe, die von der Systempumpe unabhängig steuerbar ist und einen festen Anschluss am Injektionsventil besitzt zum Auftragen von bis zu 7 Proben. Folgende Anforderungen werden außerdem an die Probenpumpe gestellt: eine automatische Flussratenkontrolle durch integrierten Drucksensor für stabile Probeninjektion, eine regelbare Flussrate im Bereich von ca. 0,1 ml/min bis mindestens 50 ml/min, eine automatisierte Probenaufgabe über ein vorgeschaltetes Probeneinlassventil von bis zu 7 Proben sowie die vollständige Integration in Systemsteuerung und Methodensoftware.

Die Anlage muss ein Probeneinlassventil inklusive Probenschläuche und Pufferschlauch aufweisen, das einen automatischen Auftrag von bis zu 7 Proben zusammen mit der zuvor beschriebenen Probenpumpe erlaubt. Entsprechend der Anforderung an die Probenpumpe, muss auch das Probeneinlassventil für eine Flussrate bis mind. 50 ml/min ausgelegt sein. Das Probeneinlassventil muss über einen integrierten Luftblasensensor verfügen und über einen Puffereingang zum Waschen zwischen Proben und Vorbefüllen des Pumpensystems.

Ein Injektionsventil mit Möglichkeit zum manuellen Probenauftrag (mittels Spritze/sample loop) und automatisierten Probenauftrag mittels Probenpumpe von bis zu 7 Proben über dasselbe Ventil muss vorhanden sein.

Zudem ist ein Ventilmodul zur Säulenauswahl und -umschaltung gefordert. Das Säulenauswahlventil soll den Anschluss/die Ansteuerung von bis zu 5 Säulen (mit integrierter Säulen-Bypass-Funktion), die Umkehr der Flussrichtung (Reverse Flow) sowie die Differenzdruckmessung ermöglichen.

Zusätzlich muss ein Auslassventil zur Schaltung zwischen Fraktionssammler, einer separaten Fraktion und dem Abfall vorhanden sein.

Es ist ein UV/Vis Detektor mit Xenon Blitzlampe und Glasfaser-Lichtleitertechnik gefordert. Die Lampe muss ohne Aufwärmzeit einsatzbereit sein. Die gleichzeitige Messung von mindestens drei Wellenlängen im UV Vis Bereich über einen Spektralbereich von mindestens 190-700 nm muss möglich sein. Des Weiteren ist eine Durchflusszelle mit geringem optischem Weg von ca. 2 mm, die Möglichkeit zum Austausch der Flusszelle (10 mm optischer Weg), eine automatische Nullstellung (Autozero) und die automatische Abschaltung im Ready-Modus notwendig.

Ein Leitfähigkeitsmesser zur Bestimmung der Leitfähigkeit der Lösungen im Säulenabfluss im Messbereich von mindestens 0,01 - 999 mS/cm muss vorhanden sein.

Das System muss einen Fraktionssammler mit flexibel kombinierbaren Racks für 24, 48 oder 96 Well Deepwell Platten sowie 15 ml (Höhe 120 x Durchmesser 17 mm) Röhrchen und 50 ml (Höhe 114 x Durchmesser 28 mm) Röhrchen enthalten. Der Fraktionssammler muss bei Nutzung von 96 Well Deepwell Platten das Auffangen von bis zu 576 Fraktionen ermöglichen. Gefäßtypen müssen automatisch erkannt werden. Das Umschalten zwischen Fraktionierung und Abfall, die Fraktionierung nach Zeit und Volumen und das Sammeln der Fraktionen innerhalb eines Gehäuses zum Schutz der Proben muss ebenfalls möglich sein.

Das Gerät muss mit kompletter Verschlauchung zur Inbetriebnahme unter Vollausstattung mit Säulen (Möglichkeit zur Verwendung von verschiedenen Schlauchdurchmessern) geliefert werden und Klemmhalterungen zur Befestigung von Säulen (mit einem Außendurchmesser von ca. 1 - 5 cm) am Gehäuse des Gerätes enthalten.

Die Anlage soll ausschließlich über einen separaten PC gesteuert/bedient werden, der ebenfalls im Umfang mit enthalten sein muss, inklusive Monitor (mind. 24 Zoll), Maus (kabellos) und Tastatur (Multimedia, deutsch), mit 2 Netzwerkkarten, Betriebssystem Win11, Kompatibilität mit Steuerungssoftware und Auswertesoftware, 16 GB Arbeitsspeicher und mind. 500 GB Speicherplatz.

Die minimalen Anforderungen an die Software zur Steuerung der Anlage sind wie folgt definiert (Auflistung):

- Steuerung sämtlicher Funktionen und Editierbarkeit wichtiger Parameter der Hardware
- Live-Intervention (Eingriff in ein laufendes Programm ohne Abbruch)
  Steuerung der Anlage über ein Fließschema
  integriertes fortlaufendes Säulen-Logbuch
  Möglichkeit zur Definition und Überwachung von Druckgrenzwerten
- Anzeige des Systemdrucks während des Chromoatographielaufs
- Anzeige des Drucks vor und nach der Chromatographiesäule, Berechnung und Anzeige des Säulendifferenzdrucks
- Automatische Verringerung der Flussrate bei Erreichen eines Maximaldrucks einstellbar
- Automatisierte, signalabhängige Fraktionierung auf Basis der Steigung des UV-Signals
- Einfache Konfiguration der Bauteile (Flussdiagramm)
- Echtzeit-Anzeige aller relevanten Parameter und Daten während des Laufs
- Tabellarische Aufzeichnung des Laufs
- Zoomen
- Freies Skalieren der Chromatogrammachsen
- Wechsel der Achsenskalierung zwischen den Laufparametern
- Einfache Programmierbarkeit kompletter Chromatographieabläufe (tabellarisch und Wizard-/Assistenten-basiert)
- Verwaltungstool für Methoden- und Resultatdateien
- Mindestens 200 Programme speicherbar
- Automatische Speicherung der letzten 10 manuellen Chromatographieläufe

Die Auswertesoftware muss folgende Optionen bieten:

- Netzwerkintegration und Nutzung der Auswertesoftware ohne hardwaregebundenen Dongle
- Anzeige und Auswertung der Chromatogramme inklusive der dazugehörigen Mess-, Methoden- und Fraktionsdaten, Tabellarische Darstellung von Mess- und Auswertedaten
- Bearbeiten der Darstellung und Drucken der Chromatogramme, Export der Auswertedaten in gängige Dateiformate (z.B. Excel)
- Möglichkeit zur Berechnung und Auswertung von Proteinkonzentrationen auf Basis der erfassten Messdaten
- Freies Skalieren der Achsen, Zoomen im Bild

Es ist unabdinglich, dass die Möglichkeit der Integrierung/Anschließens eines externen Refraktionsindex-Detektors gegeben ist.
Die Möglichkeit zur Remotebedienung und -überwachung, -auswertung des Chromatographiesystems von einem separaten Arbeitsplatz über das lokale Netzwerk (für mind. 1 Person) mittels entsprechender Lizenzen muss gegeben sein.
Sämtliche Lizenzen für Software und zur Bedienung/ Nutzung des Systems und Software dürfen keine Folgekosten haben.

Die Lieferung der gesamten Anlage muss frei Verwendungsstelle erfolgen. Im Lieferumfang muss ebenfalls die betriebsbereite Installation sowie Schulung für mindestens 3 Personen enthalten sein.

Die Anlage wird im 1. OG des C_FunGene in der Felix-Hausdorff-Str. 8 im Raum 1.09 der Arbeitsgruppe „Pharmazeutische Biotechnologie“ aufgestellt. Der Raum ist mit einem Aufzug zu erreichen, d.h. es sind keine Treppen, Absätze oder Ähnliches vorhanden. Die Flure, Durchgänge und Türen entsprechen dem üblichen Standard und weisen eine Breite von mind. 100 cm und eine Höhe von mind. 220 cm auf.

.