

Název projektu: Mezioborové technické činnosti při implementaci technologií do laboratorních, výzkumných a výrobních procesů

Skupina: 230 Technologie

Vedoucí: Marek Pokorný

Délka: 12 měsíců

Anotace:

V tomto programu se uchazeč stane plnohodnotným členem technologické skupiny. Aktivně se zapojí do všech činností, které jsou charakteristické pro experimentální výzkum, projektový vývoj až po širší spolupráce na implementaci technologických celků do různých farmaceutických nebo kosmetických produktových výrob. Při provádění výzkumných činností si uchazeč osvojí různé experimentální metody, nové postupy a principy. Během vývoje zařízení zpracovává pod vedením plány pro kvalifikaci designu (tzn. technické analýzy, kalkulace, průzkumy, reporty, schémata zapojení, konstrukční návrhy apod.). V realizační fázi se podílí na zhotovení zařízení nebo jejich částí (tzn. zapojování, montáže, programování, testování, ověřování, instalace, optimalizace, dokumentování apod.). Získané znalosti uplatní během širší spolupráce na integraci nových technologií a technických prvků do produktových výrob.

Během jednoho roku trainee získá nejen obsáhlý přehled o všech dílčích činnostech propojující výzkum moderních technologií a jejich využití při výrobě kosmetických nebo zdravotnických prostředků, ale navíc získá detailní zkušenosti multidisciplinárního charakteru, které usnadní rozhodování při výběru dalšího působení.

Název projektu: Interakce hyaluronanu s klíčovými receptory a proteiny

Skupina: 248 Fyzikální chemie

Vedoucí: František Ondreaš

Délka: 12 měsíců

Anotace:

Principy a mechanismy interakcí hyaluronanu (HA) s fyziologicky významnými HA receptory (např. CD44, TSG-6, TLR, LYVE) a proteiny jsou dlouhodobým předmětem vědeckého bádání. Má se za to, že široké spektrum účinků HA vychází právě z interakce s HA receptory (hyaladheriny), vedoucí ke vzniku protein-HA komplexů, jež ovlivňují biologické procesy. Detailní znalost afinity, mechanismu a podmínek interakcí HA a jeho derivátů s klíčovými hyaladheriny a proteiny nám poskytne informace o chování těchto těchto látek v modelových podmínkách, které pak mohou být využity ke korelaci jejich funkce in vivo. Korelace mezi afinitou studovaných interakcí se strukturními vlastnostmi derivátů HA umožní připravovat nové, aplikačně zajímavé deriváty a hybridní směsné systémy s novými unikátními vlastnostmi, které mohou být následně testovány in-vitro a in-vivo pro korelaci s biologickou funkcí.

V rámci trainee projektu budou pro tyto potřeby zařazeny experimentální postupy a metodiky s využitím biosenzorických systémů QCM (quartz crystal microbalance) a OWLS (optical waveguide lightmode spectroscopy). Oblast biosenzorů je multidisciplinární neustále se rozvíjející obor s širokým aplikačním potenciálem. Biosenzory umožňují sledování interakcí na molekulárním měřítku, kdy jedna ze sledovaných molekul je při experimentu ukotvena k povrchu biosenzoru, zatímco druhá molekula proudí nad povrchem. Při jejich interakci dochází ke změně měřené fyzikálně-chemické veličiny, jež danou interakci charakterizuje. Nespornou výhodou je získání real-time dat, která poskytují informace o kinetice interakcí.

Cílem trainee projektu bude odhalit, jak specifické modifikace a délky HA ovlivňují afinitu interakcí s vybranými HA receptory a proteiny. Náplní práce proto bude vývoj a optimalizace fyzikálních biosenzorů, kdy prvním krokem bude provedení a ověření chemické modifikace povrchu biosenzoru za účelem kotvení požadovaných molekul (tj. HA, HA derivátu nebo HA receptoru). V případě OWLS se bude jednat zejména o silanizaci povrchu OWLS čipu, v případě QCM půjde například o zavedení samoskladných thiolových monovrstev na vrstvu zlata na povrchu QCM čipu. Nedílnou součástí projektu bude regenerace použitých senzorů chemickými a fyzikálními procesy tak, aby mohly být opětovně použity. Pro účely ověření čistoty regenerovaného senzoru budou využity techniky jako měření kontaktního úhlu, IČ spektroskopie nebo SEM. Bude monitorována a vyhodnocována kinetika a velikost interakce mezi HA derivátem a příslušnými receptory na různě upravených čipech. Bude studován i vliv fyzikálně-chemických parametrů na tuto interakci (pH, teplota, iontová síla). Získané poznatky o interakcích na molekulární úrovni budou korelovány s biologickou funkcí hyaluronanu a jeho derivátů.

Projekt bude řešen na pracovišti RnD primárně v podskupině Fyzikální chemie ve spolupráci s dalšími výzkumnými podskupinami Modifikace a Fyziologie buňky.

Název projektu: Vývoj metodiky pro sledování komplexů HA

Skupina: 261 Farmakokinetika

Vedoucí: Matěj Šimek

Délka: 6–12 měsíců

Anotace:

Hyaluronan (HA) se v organismu vyskytuje ve komplexů s proteiny a proteoglykany. Tyto komplexy velmi pravděpodobně stojí za unikátní bioaktivitou HA, která hraje klíčovou roli v mnoha biologických procesech, včetně zánětu, proliferace buněk a migrace. Cílem práce bude vývoj a optimalizace metod pro stanovení koncentrace a molekulové hmotnosti a koncentrace HA, jak ve volné formě, tak vázané v komplexech. Zásadní částí práce bude vývoj metodiky využívající kapalinové chromatografie spojené s hmotnostní spektrometrií (LC-MS) určené pro detekci kovalentních vazeb v komplexech HC-HA. Dalším cílem bude optimalizace metodiky, využívající pravděpodobně ^{13}C značení, size exclusion chromatografii, frakcionaci a LC-MS, s cílem prokázat, že exogenní HA je schopná inkorporace do HA komplexů v biologických systémech. Tato práce by mohla poskytnout cenné nástroje pro pochopení dynamiky HA a jeho komplexů v organismu a jeho významu pro regenerativní procesy.

Název projektu: Fotochemické modifikace oligosacharidů HA

Skupina: 243 Modifikace

Vedoucí: Tomáš Klejch

Délka: 6 měsíců

Anotace:

Kyselina hyaluronová (HA) je lineární polysacharid s pravidelně se střídajícími N-acetylglukosaminy a D-glukuronovými kyselinami a molekulovou hmotností dosahující milionů Daltonů. Navzdory poměrně jednoduché struktuře vykazuje různorodé biologické účinky, které lze ještě upravit vhodnou modifikací. Například redukce karboxylových skupin¹ zvyšuje odolnost vůči degradaci, chlorací amidických dusíků² lze získat antimikrobiální materiál a amfifilní deriváty jsou připravitelné například acylací mastnými kyselinami³. Tyto deriváty pak mohou být využity například v medicínských aplikacích.

Jednou z možností derivatizace je využití radikálových reakcí. Nevýhodou práce s radikály jsou nežádoucí vedlejší reakce, například štěpení řetězce HA, které jsou umocněny prací při zvýšené teplotě. Řešením může být generování radikálů fotochemicky pomocí světla⁴, kdy lze pracovat i za snížené teploty.

Náplní tohoto trainee projektu bude příprava materiálů na bázi HA pomocí fotochemických reakcí, jejich izolace (srážení, RP chromatografie) a charakterizace pomocí NMR a LC-MS. Dále bude testována jejich cytokompatibilita.

1 Buffa, R., et al.: Modified hyaluronic acid with enhanced resistance to degradation. *Carbohydrate Polymers*, 2023, 320, 121241.

2 Buffa, R., et al.: Hyaluronic acid chloramide-Synthesis, chemical structure, stability and analysis of antimicrobials. *Carbohydrate polymers*, 2020, 250, 116928.

3 Huerta-Ángeles, G., et al.: Retinoic acid grafted to hyaluronan for skin delivery: Synthesis, stability studies, and biological evaluation. *Carbohydrate Polymers*, 2020, 231, 115733.

4 Bobula, T., et al.: A novel photopolymerizable derivative of hyaluronan for designed hydrogel formation. *Carbohydrate Polymers*, 2017, 161, 277-285.

Název projektu: **Detekce HA komplexů v biologických vzorcích**

Skupina: 211 Fyziologie buňky

Vedoucí: Kristina Nešporová

Délka: 12 měsíců

Anotace:

Hyaluronan (HA) má v těle řadu významných biologických funkcí včetně organizace extracelulární matrix a pericelulárního obalu či glykokalyx celé řady buněk. Tato funkce souvisí s jeho regulačními schopnostmi v zánětu a regeneraci. V rámci toho projektu budou vyvinuty metody izolace, separace, detekce a identifikace jednotlivých složek těchto komplexů. Práce bude probíhat ve skupině Fyziologie buňky (příprava biologického materiálu živočišného původu i in vitro buněčného původu), izolace volného i vázaného HA, příprava vzorků na analýzu. Ta bude probíhat ve spolupráci s podskupinou Farmakokinetika za použití nejmodernějších analytických metod. Cílem bude vytvořit metodiku pro stanovení těchto komplexů ve zdravých i nemocných tkáních, což poslouží v dalším pochopení regulačních schopností HA v organismu a vývoji nových terapeutik založených na HA.

Název projektu: Stanovení kyseliny hyaluronové a degradujících enzymů v chronické ráně

Skupina: 211 Fyziologie buňky

Vedoucí: Vojtěch Pavlík

Délka: 12 měsíců (část ve spolupráci se skupinou Farmakokinetika)

Anotace:

Pro podporu hojení chronických ran se s úspěchem používá kyselina hyaluronová. Není však jasné, jak je na tom prostředí chronické rány z hlediska endogenní kyseliny hyaluronové a jak je charakterizováno prostředí chronické rány vzhledem k degradaci kyseliny hyaluronové. Tyto degradační vlastnosti budou ovlivňovat i štěpení exogenní, do rány dodané, kyseliny hyaluronové.

Ze spolupracujících klinických pracovišť bude získán materiál z debridementu chronických ran. V něm bude analyzována hyaluronidázová aktivita (zymografie), množství a molekulová hmotnost endogenní kyseliny hyaluronové (zymografie, chromatografie), kolokalizace kyseliny hyaluronové a bakterií (imunofluorescenční mikroskopie). Odebrané vzorky budou také inkubovány s kyselinou hyaluronovou a bude sledována její degradace. Ze vzorků bude podle bakteriální ribozomální DNA možné stanovit i bakteriální osídlení rány a vztahovat k němu degradační vlastnosti odebraného materiálu.

Získané výsledky budou unikátní a pomůžou nám lépe poznat prostředí chronické rány a vztah endogenní a exogenní kyseliny hyaluronové k tomuto prostředí. Práce se může stát podkladem pro vývoj prostředků na bázi kyseliny hyaluronové a jejích derivátů, které budou cíleněji ovlivňovat prostředí chronické rány.

Název projektu: **Optimalizace poloprovozní výroby derivátů HA**

Skupina: 280 Realizace výstupů

Vedoucí: Petr Štěpán

Délka: 4 měsíce

Anotace:

Deriváty hyaluronanu hrají významnou roli v portfoliu surovin firmy Contipro a.s. a proto si vyžadují neustálou pozornost a optimalizace za účelem zefektivnění výroby a navýšení výrobních šarží. Hydrofobizované deriváty hyaluronanu s kyselinou laurovou se ukázaly jako aplikačně atraktivní a s tím rostou i požadavky na vyráběné množství derivátu. Podrobnou analýzou samotného výrobního procesu lze nalézt parametry pro zvýšení efektivity výroby a jednotlivé optimalizační kroky zakomponovat do procesu výroby. V průběhu ověřování a zavádění jednotlivých optimalizačních kroků je ovšem nutné dbát na zachování unikátních vlastností derivátu pro uplatnění svého aplikačního potenciálu.

Název projektu: **Zavedení a validace poloprovozní výroby zdravotnického prostředku**

Skupina: 280 Realizace výstupů

Vedoucí: Vlastimil Hrobař

Délka: 6 měsíců

Anotace:

V rámci tohoto trainee projektu bude zavedena a validována poloprovozní výroba nového zdravotnického prostředku (ZP) společnosti Contipro a.s. pro žádost o CE značku. Poloprovozní výroba bude vycházet z postupů použitých pro přípravu vzorků na klinické zkoušení, které již probíhá. Problematické dílčí kroky budou optimalizovány a/nebo nahrazeny takovými, které bude následně možné lépe automatizovat. Mezi hlavní řešené kroky výroby patří rozpouštění, dávkování, lyofilizace, lisování, řezání, balení, značení a sterilizace. Součástí této práce bude také podíl na tvorbě související dokumentace (výrobní reglement, výrobní záznamy, pracovní instrukce, návody, ...).

Po zavedení poloprovozní výroby bude přistoupeno ke kvalifikacím a validacím. Trainee se bude aktivně podílet na procesní validaci výroby včetně dílčích kroků validace těsnosti obalů nebo validace čištění použitých zařízení. V případě kvalifikací půjde o ověření, že veškeré zařízení používané při výrobě je instalováno, provozováno a udržováno tak, aby splňovalo požadavky na kvalitu, bezpečnost a funkčnost.

Výstupy řešení tohoto projektu budou použity při následném registračním procesu (žádost o CE značku) a pomohou uvedení nového produktu na trh.