



Université Claude Bernard



DIPLÔME NATIONAL DE DOCTORAT

(Arrêté du 25 mai 2016)

Date de la soutenance : **25 janvier 2018**

Nom de famille et prénom de l'auteur : **BOUICHE Ferial**

Titre de la thèse : « Amélioration instrumentale de la chromatographie de partage centrifuge en vue de la purification de molécules très polaires »



Résumé

L'objectif de cette thèse est de développer un nouvel instrument de chromatographie de partage centrifuge (CPC) dédié à la purification de molécules très polaires. La CPC est une technique préparative permettant la séparation des molécules grâce à l'utilisation d'un système solvant constitué de deux liquides non miscibles. Ce manuscrit expose dans un premier temps les différentes techniques de purification de protéines utilisées dans le cas d'un procédé industriel de production. Un focus est réalisé sur l'utilisation de systèmes biphasiques aqueux pour la purification des biomolécules, qui représente un réel avenir dans l'industrie du fait de son faible coût, de sa facilité de montée en échelle et surtout de l'environnement favorable qu'il fournit aux biomolécules. Ainsi en se basant sur les avantages de ces systèmes solvants dits Aqueous Two Phase Systems (ATPS), la CPC pourrait apporter une efficacité supplémentaire permettant de purifier les protéines à moindre coût. Pour pouvoir répondre à cet enjeu industriel, il est nécessaire de développer à la fois des méthodes chromatographiques innovantes et de nouveaux instruments dédiés. En effet, les instruments de CPC actuels ne sont pas compatibles avec les Bonne Pratique de Fabrication du fait de la présence de joints téflons qui empêche la possibilité de stériliser les instruments. La fabrication d'un nouvel instrument monobloc entièrement en titane a été réalisée grâce à la technologie de l'impression 3D pour répondre à cette problématique. L'objet de cette thèse est l'évaluation poussée des performances de cette nouvelle colonne afin de déterminer son applicabilité à la purification des biomolécules. Un focus sera également apporté à l'injection de volumes très faibles d'échantillon afin de faciliter le développement de méthodes.