



Espermina Sefarosa como un adsorbente aniónico con aglomerados de carga

Sagar Dhamane¹, Federico Ruiz-Ruiz^{1,2}, Wen-hsiang Chen¹, Katerina Kourentzi¹, Jorge Benavides², Marco Rito-Palomares², Richard Willson¹

¹ Department of Biology and Biochemistry, University of Houston, Houston, TX 77204-5001, EUA

² Centro de Biotecnología FEMSA, Departamento de Biotecnología e Ingeniería de Alimentos, Tecnológico de Monterrey, Campus Monterrey, Ave. Eugenio Garza Sada 2501 sur, Monterrey, NL, 64849, México
mrito@itesm.mx

Palabras clave: Cromatografía intercambio iónico, aglomerados de carga, espermina.

Introducción. Las matrices de intercambio iónico empleadas para separaciones cromatográficas involucran procesos químicos aleatorios que generan una distribución de carga heterogénea en la resina en cuestión. Trabajos previos de nuestro grupo [1] de investigación han demostrado que la localización selectiva de aglomerados de carga mediante el uso de péptidos en una matriz polimérica incrementa de manera notable la selectividad y afinidad hacia proteínas de interés. Sin embargo, una de las principales limitantes de emplear péptidos reside en los altos costos de síntesis involucrados. En este contexto se considera que el uso de compuestos de bajo peso molecular con múltiples cargas, como la espermina ($C_{10}H_{26}N_4$), tienen gran potencial para ser utilizados para funcionalizar resinas de intercambio iónico de manera sencilla y económica.

El objetivo del presente trabajo consiste en caracterizar el uso de la espermina como ligando para cromatografía de intercambio iónico, y comparar su desempeño con aquel de resinas de intercambio iónico comerciales.

Metodología. Se activó una resina de sefarosa acorde al método de Miron y Wilchek [2]. Por medio de titulación con NaOH en modo columna se determinó la densidad de ligandos en la resina preparada (17 mM). Posteriormente se tomaron alícuotas de la resina, 60% v/v con buffer de equilibrado (10 mM Tris, 10 mM NaCl, pH 8), se añadieron 10-180 μ l (5 mg/ml) de α -lactalbúmina, se realizaron etapas de equilibrado, lavado y elución por lotes por triplicado. La información de cada etapa fue compilada y ajustada estadísticamente a las isothermas de adsorción de Langmuir, Langmuir-Freundlich y el modelo de acción estérica [3]. Se calcularon la máxima capacidad de adsorción (Q_{max}), la afinidad inicial de unión (Q_{max}/K_D) y el parámetro Z de acción estérica, el cual determina el número de interacciones entre el adsorbato y el adsorbente.

Resultados. En las Fig. 1 y 2 se presentan las isothermas de adsorción y la gráfica de desplazamiento estequiométrico para la resina elaborada, en donde se observa claramente un incremento en la capacidad de separación y en la interacción molecular (Z) de la Espermina-Sefarosa, en comparación con las resinas comerciales ampliamente utilizadas (DEAE Sefarosa Qiagen y GE Healthcare).

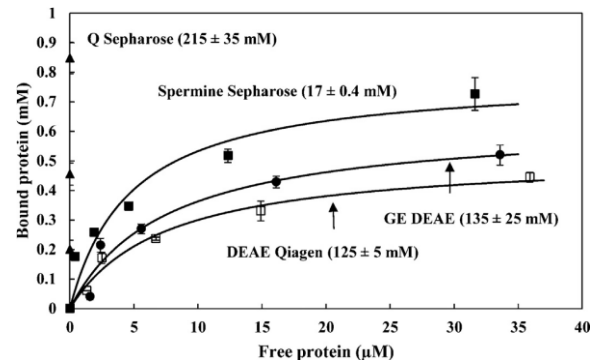


Fig 1. Isothermas de adsorción de α -lactalbúmina (sin Ca^{2+}) para resina elaborada (Spermine Sepharose), y adsorbentes tradicionales (DEAE Qiagen y GE Healthcare).

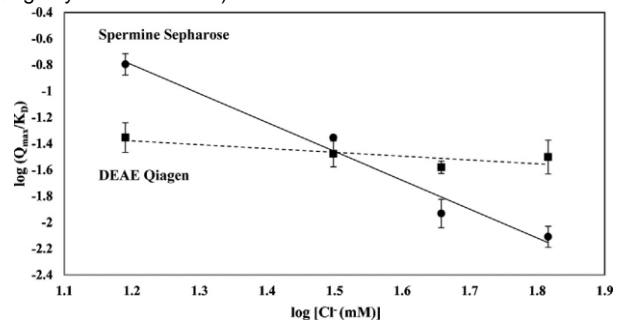


Fig 2. Gráfica para factor del desplazamiento estequiométrico Z , para adsorción de α -lactalbúmina con Espermina Sefarosa y DEAE Qiagen.

Conclusiones. El adsorbente desarrollado presentó mayor afinidad y capacidad de separación que las resinas comerciales. El nuevo material exhibe una mayor dependencia (adsorción/desorción de analitos) con cambios en fuerza iónica, lo cual incrementa su potencial para separaciones industriales. Los resultados obtenidos demostraron que la espermina representa una eficiente y económica alternativa para la generación de resinas de intercambio iónico.

Agradecimiento. Propuesta E-1264:CBET-1133965 del NSF (EUA). Se agradece apoyo del ITESM (Grupo de Enfoque de Bioprocesos y Biología Sintética, GEE04) y a CONACyT por la beca #295368.

Bibliografía.

1. Chen WH, Fu JY, Kourentzi K, Willson RC. (2011) *J Chrom A*. 1218: 258-264
2. Miron T y Wilchek M. (1981) *J. Chromatogr.* 215: 55-62
3. Brooks CA y Cramer S. (1992) *AIChE J.* 38: 1969-1977