



ANÁLISIS DEL COMPORTAMIENTO DE COLUMNAS CROMATOGRÁFICAS DE MEMBRANAS PARA LA PURIFICACIÓN DE DNA

Rosa Ma. Montesinos Cisneros, Roberto Guzmán Zamudio, Jaime Ortega López, Armando Tejada Mansir
Depto. de Biotecnología y Bioingeniería, CINVESTAV. Av. Instituto Politécnico Nacional 2508. Col. San Pedro
Zacatenco. México, D.F. cp. 07360. E-mail: rosamamc@gauss.mat.uson.mx

Palabras clave: Cromatografía, DNA, simulación.

Introducción. En la última década se ha incrementado el interés por la producción a escala comercial de DNA plasmídico para su uso en terapia génica y vacunación. Los esquemas de producción de estas biomoléculas generalmente involucran varias operaciones cromatográficas en columna. Para realizar estas separaciones las columnas de membranas ofrecen algunas ventajas competitivas. El objetivo de este trabajo es analizar el comportamiento de columnas de membranas de intercambio iónico para purificación de DNA, utilizando un enfoque teórico-experimental basado en modelos de transporte

Marco teórico. El proceso de adsorción de DNA en una columna de membranas de intercambio aniónico, se describe mediante un balance de masa de DNA en el seno del líquido, un balance en el adsorbente, la cinética de adsorción y las condiciones iniciales y de frontera. El comportamiento del flujo en el sistema se describe como una combinación en serie de un reactor tipo tanque (RTCA) y un reactor de flujo tapón. Las ecuaciones que integran el modelo son:

$$\frac{\partial c}{\partial t} = D_{ax} \frac{\partial^2 c}{\partial z^2} - v \frac{\partial c}{\partial z} - \frac{(1-\epsilon) \partial q}{\epsilon \partial t} \quad (1)$$

$$\frac{\partial q}{\partial t} = k_1 c^* (q_m - q) - k_{-1} q \quad (2)$$

$$\text{en } t = 0, \quad c = 0 \quad \text{y} \quad q = 0 \quad \text{para } 0 \leq z \leq 1 \quad (3)$$

$$\text{en } z = 0, \quad \epsilon v c_o = \epsilon v c - \epsilon D_{ax} \frac{\partial c}{\partial z} \quad \text{para } t > 0 \quad (4)$$

$$\text{en } z = L, \quad \frac{\partial c}{\partial z} = 0 \quad \text{para } t > 0 \quad (5)$$

$$c = 0 \quad \text{para } t \leq t_{ret} \quad (6)$$

$$c = c_o \left\{ 1 - \exp \left[- \frac{F}{V_{RTCA}} (t - t_{ret}) \right] \right\} \quad \text{para } t > t_{ret} \quad (7)$$

Metodología. Se investigó la dinámica de la adsorción de DNA de esperma de salmón a una columna membranas de intercambio iónico mediante la obtención de la curva de ruptura experimental (BTC). El coeficiente de dispersión axial se estimó mediante una correlación de la literatura [2]. La constante de disociación y la constante de adsorción intrínseca se obtuvieron por ajuste de los datos experimentales. La simulación del comportamiento de la columna se realizó resolviendo numéricamente las ecs. (1-7) utilizando el método de líneas. Los valores de los parámetros empleados en la simulación se muestran en el Cuadro I.

Cuadro 1. Datos de los parámetros utilizados en las simulaciones.

Capacidad máxima	$q_m = 24.61 \text{ mg/ml de lecho}$
Constante de disociación	$K_d = 0.2 \text{ mg/ml}$
Cte. de adsorción intrínseca	$k_1 = 5.0 \text{ ml/mg} \cdot \text{s}$
Concentración de entrada	$c_o = 0.2 \text{ mg/ml}$
Dispersión axial	$D_{ax} = 9.1 \times 10^{-8} \text{ cm}^2/\text{s}$
Volumen del RTCA	$V_{cstr} = 0.5 \text{ ml}$

Resultados y discusión. En la Fig. 1 se presenta la curva de ruptura experimental del sistema y la curva simulada con el modelo. Se observa un adecuado ajuste del modelo a los datos experimentales con los parámetros empleados, en la región donde c/c_o es menor a 0.8, la región de mayor interés operacional.

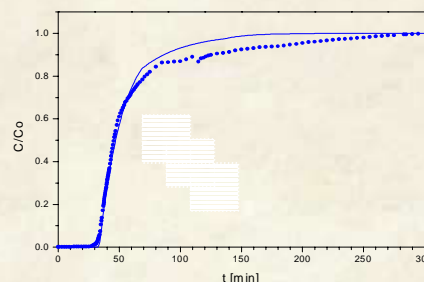


Fig. 1. BTCs: (●) experimental de DNA de esperma de salmón con $c_o=0.2 \text{ mg/ml}$; (—) simulada. Columna de $0.5 \times 0.45 \text{ cm}$ con, $F=0.17 \text{ ml/min}$.

Conclusiones. En este trabajo se utilizó un enfoque teórico-experimental para describir el comportamiento de una columna de membranas en la cromatografía frontal de DNA. El uso del modelo es un primer intento para la simulación de este tipo de columnas y su aplicación requiere de mayor experimentación.

Agradecimiento. Los autores agradecen el apoyo recibido del CONACYT Fondo U39963-Z y la Universidad de Sonora.

Bibliografía.

1. Ferreira, G., Cabral, J., Prazeres, D. (2000). Studies on the batch adsorption of plasmid DNA onto anion exchange chromatographic supports. *Biotechnol. Prog.* 16: 416-424.
2. He, L., Niemeyer, B. (2003). A novel correlation for protein diffusion coefficients base on molecular weight and radius of gyration. *Biotechnol. Prog.* 19: 544-548.