



ANÁLISIS DEL COMPORTAMIENTO DE LA ADSORCIÓN DE DNA PLASMÍDICO EN COLUMNAS CROMATOGRÁFICAS DE MEMBRANAS

Rosa Ma. Montesinos Cisneros, Roberto Guzmán Zamudio, Jaime Ortega López, Armando Tejada Mansir
Universidad de Sonora. Rosales y Boulevard Luis Encinas. Hermosillo, Sonora cp. 83000

E-mail: rmontesinos@gauss.mat.uson.mx

Palabras clave: Cromatografía, pDNA, simulación.

Introducción. La terapia génica y las vacunas de DNA son técnicas innovadoras para la prevención, tratamiento y cura de diversas enfermedades. Varias aplicaciones de estas técnicas están basadas en el uso de plásmidos generando un gran interés en sus procesos de producción [1]. Para realizar las operaciones de purificación requeridas, las columnas de membranas ofrecen ventajas competitivas. El objetivo de este trabajo es investigar mediante un enfoque teórico-experimental la capacidad real de estos sistemas para procesar soluciones que contengan estas biomoléculas.

Marco teórico. El proceso de adsorción de pDNA en una columna de membranas de intercambio aniónico, se describe mediante un balance de masa en el seno del líquido, un balance en el adsorbente, la cinética de adsorción y las condiciones iniciales y de frontera. El comportamiento hidrodinámico del sistema se describe como una combinación en serie de un reactor tipo tanque (RTCA) y un reactor de flujo tapón. El modelo consiste de las ecuaciones siguientes [2]:

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

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

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

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

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

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

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

Metodología. Mediante la obtención de la curva de ruptura experimental (BTC), se investigó la dinámica de la adsorción del plásmido pCI de 4006 pb a una columna de membranas de intercambio iónico. Las constantes de disociación, adsorción intrínseca y capacidad máxima, se estimaron a partir de las BTC experimentales de acuerdo al método de optimización de Nelder-Mead. Usando la correlación de He y Niemeyer se estimó el coeficiente de dispersión axial. La simulación del comportamiento de la adsorción en la columna se realizó resolviendo numéricamente las ecs. (1-7) por el método de líneas. Los valores de los parámetros empleados en la simulación se muestran en la Tabla I.

Tabla I. Datos de los parámetros utilizados en las simulaciones.

Capacidad máxima	$q_m = 10.5 \text{ mg/ml}$ de lecho
Constante de disociación	$K_d = 0.08 \text{ mg/ml}$
Cte. de adsorción intrínseca	$k_f = 0.5 \text{ ml/mg} - \text{s}$
Concentración de entrada	$c_o = 0.2 \text{ mg/ml}$
Dispersión axial	$D_{ax} = 4.56 \times 10^{-8} \text{ cm}^2/\text{s}$
Volumen del RTCA	$V_{cstr} = 0.6 \text{ ml}$

Resultados y discusión. En la Fig. 1 se presenta la BTC experimental del sistema y las curvas simuladas con el modelo. Se observa un buen ajuste del modelo a los datos experimentales, cuando se considera el efecto de dispersión externa en el sistema en la región donde C/C_o es menor a 0.8.

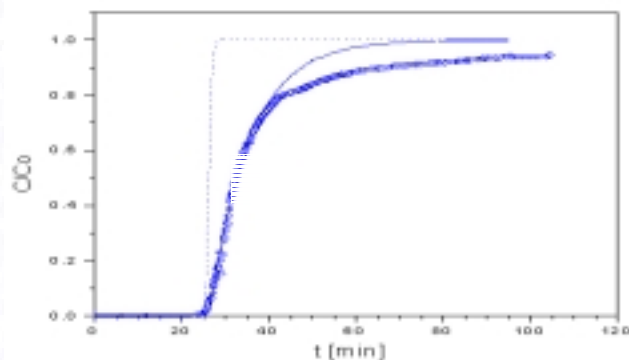


Fig. 1. BTCs: (o) experimental de pDNA-CI con $c_o=0.2 \text{ mg/ml}$; (—) modelo completo (...) sin dispersión extracolumna.. Columna de $0.5 \times 0.45 \text{ cm}$ con, $F=0.13 \text{ ml/min}$.

Conclusiones. En este trabajo se utilizó un enfoque teórico-experimental para describir el comportamiento de una columna de membranas en la cromatografía frontal de pDNA. El uso de modelos permite simular este tipo de columnas y contribuye a su mejor diseño y operación.

Agradecimientos. Los autores agradecen el apoyo recibido del CONACYT Fondo U39963-Z, la Universidad de Sonora y el Departamento de Biotecnología y Bioingeniería del CINVESTAV.

Bibliografía.

- Diogo, M. M.; Queiroz, J. A.; Prazeres, D. M. F. Chromatography of Plasmid DNA. (2005) J. Chromatogr A., 1069, 3-22.
- Tejada-Mansir, A.; Montesinos, R.M.; Guzmán, R. (2001). Mathematical analysis of frontal affinity chromatography in particle and membrane configurations. J. Biochem. Biophysical Methods. 49, 1-28.