

CROMATOGRAFÍA FRONTAL DE PLÁSMIDOS: ESTIMACIÓN DE PARÁMETROS Y SIMULACIÓN

Rosa Ma. Montesinos Cisneros, Roberto Guzmán Zamudio, Jaime Ortega López, Armando Tejeda 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, plásmidos, simulación.

Introducción. Actualmente existe un gran interés en la producción a escala comercial de plásmidos de DNA para su uso en terapia génica y vacunación. Los esquemas de producción de estas biomoléculas generalmente involucran varias operaciones cromatográficas en columna. La simulación de la dinámica de estas columnas es una herramienta que puede ayudar a su escalamiento. El objetivo de este trabajo es analizar el comportamiento de columnas de intercambio iónico para purificación de plásmidos, mediante el uso de modelos y correlaciones de transporte apropiadas.

Marco teórico. El proceso de adsorción de un plásmido en una columna de intercambio aniónico, se describe mediante un balance de masa de plásmido en el seno del líquido, un balance en el adsorbente, la cinética de adsorción y las condiciones iniciales y de frontera siguientes:

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

$$\frac{\partial q}{\partial t} = \frac{3k_f}{r_o} (c - c^*) \quad (2)$$

$$\frac{\partial q}{\partial t} = k_1 c^* - q \quad (3)$$

en $t = 0, c = 0$ y $q = 0$ para $0 \leq z \leq L$ (4)

en $z = 0, \frac{\partial c}{\partial z} = 0$ para $t \geq 0$ (5)

en $z = L, \frac{\partial c}{\partial z} = 0$ para $t \geq 0$ (6)

Metodología. En esta investigación, se utilizó como sistema modelo la adsorción del plásmido pMa5L en una columna de intercambio iónico de Agarosa FF [1]. Los parámetros de transporte se estimaron mediante correlaciones de la literatura [2,3]. Los estudios para simular el comportamiento de la columna se realizaron resolviendo numéricamente las ecuaciones del modelo (ecs. 1-6) utilizando el método de líneas. Los datos de los parámetros empleados se muestran en el Cuadro I. El análisis de la dinámica de la columna se efectuó variando los principales parámetros de operación del sistema.

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

Capacidad máxima	$q_{ma} = 2.46$ mg/ml
Porosidad del lecho	$\epsilon = 0.35$
Cte. de desorción	$K_d = 0.0033$ mg/ml
Cte. de adsorción intrínseca	$k_1 = 8.9$ ml/mg - s
Radio de la partícula	$r_o = 45$ μ m
Coef. de transf. en película	$k_f = 1.62 \cdot 10^{-5}$ cm/s
Difusividad	$D = 4.23 \cdot 10^{-8}$ cm ² /s

Resultados y discusión. Se logró simular el comportamiento de la cromatografía frontal de plásmidos utilizando una combinación de parámetros experimentales y de transporte obtenidos mediante novedosas correlaciones. En la Fig. 1 se presenta la curva de ruptura del sistema a tres diferentes concentraciones de entrada a la columna. Estas curvas en forma de jota son características de procesos donde la resistencia limitante es la transferencia de masa en la película. Conforme la concentración de entrada aumenta, la productividad del sistema se incrementa.

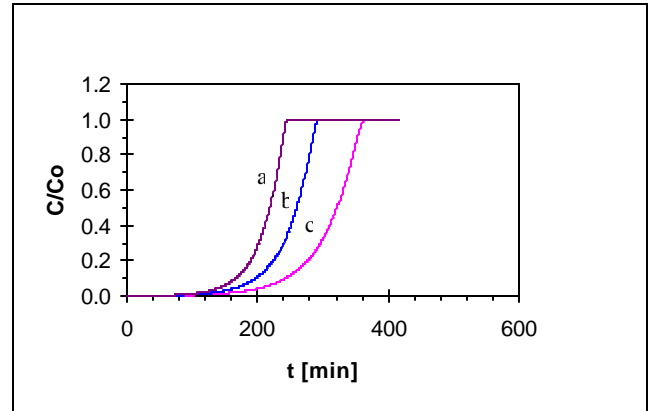


Fig. 1. Efecto de la concentración de alimentación sobre la curva de ruptura en la purificación del plásmido pMa5L. a) $c_o=0.12$, b) $c_o=0.1$, c) $c_o=0.08$ mg/ml. Columna de 1x5 cm. Flujo=0.25 ml/min.

Conclusiones. En este trabajo se desarrolló un modelo de transporte para simular el comportamiento de la adsorción frontal de plásmidos. Los parámetros del modelo se estimaron utilizando novedosas correlaciones que integran las características particulares de los plásmidos. Este estudio inicial puede ser útil para el desarrollo y diseño de procesos de recuperación de plásmidos.

Agradecimiento. Los autores agradecen el apoyo recibido del Depto. de Biotecnología y Bioingeniería del Cinvestav IPN; la Universidad de Sonora y del PROMEP.

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., Niemeier, B. (2003). A novel correlation for protein diffusion coefficients base on molecular weight and radius of gyration. *Biotechnol. Prog.* 19: 544-548.
3. Foo, S., Rice, R. (1975). On the prediction of ultimate separations in parametric pumps. *AIChE J.* 21: 1149-1158.

