



XIV Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería



USO DE FLOCULANTES EN LA RECUPERACIÓN PRIMARIA DE PROTEÍNAS RECOMBINANTES

Arturo Gómez-Aquino y Octavio Tonatiuh Ramírez Reivich.

Departamento de Medicina Molecular y Bioprocesos, Instituto de Biotecnología, UNAM.
Cuernavaca, Mor. Av. Universidad #2001 Col. Chamilpa C.P. 62250. Tel: (777) 3291617.
e-mail: itzcoatl@ibt.unam.mx

Palabras clave: clarificación, polielectrolitos, glicoproteínas.

Introducción. Se han identificado tecnologías capaces de competir o mejorar las utilizadas en la clarificación de medios de cultivo que contienen productos de interés de alto valor agregado (p. ej. biofármacos). Entre estas operaciones destaca la floculación mediante el uso de polímeros de alto peso molecular los cuales pueden remover células, proteína del hospedero y DNA. Esta operación presenta beneficios en comparación al uso de centrifugas y membranas de filtración. En éste trabajo se evaluaron diferentes polímeros para seleccionar aquél que proporcionara las mejores condiciones de floculación definidas como mayor remoción celular, remoción de contaminantes y menor tiempo de sedimentación.

Metodología. Se utilizaron 10 compuestos de naturaleza catiónica, con diferentes pesos moleculares (Tabla 1). La suspensión celular modelo consistió en células de ovario de hámster chino (CHO) cosechadas al 90, 70 y 50 de viabilidad (densidad celular 1.8×10^6 cel/ml). En cada una de éstas condiciones se adicionó polímero a 60, 80 y 100 ppm y se muestreó cada 5 min (0 – 30 min) con una metodología modificada del "test de jarras" (1). Se determinó la concentración de proteína perteneciente al hospedero (HCP) por el método de Bradford (2), así como DNA por PicoGreen. Con la información obtenida se calculó la remoción celular (RC), constantes de clarificación y la remoción de biomoléculas.

Tabla 1. Polímeros utilizados.

Nombre	P.M. (kDa)	Compañía	pl
Poli-L-Histidina	5-25	Sigma-Aldrich	7.6
Polietilen-imina	15-25	Sigma-Aldrich	11
Poli-L-Arginina	25-40	Sigma-Aldrich	10.8
Poli-L-Lisina DL	25-40	Sigma-Aldrich	9.8
Poli-L-Ornitina	30-70	Sigma-Aldrich	8-9
Poli-L-Lisina	30-70	Sigma-Aldrich	9.8
Bórax	381.4 (g/mol)	Sigma-Aldrich	-
Superfloc 90	Muy alto (relativo)	Servical de México	-
Kemira C-573	Bajo (relativo)	Kemira de México	-
Kemira C-581	Alto (relativo)	Kemira de México	-

Resultados. Se identificó que la viabilidad de 90% y el aumento de la concentración de polímero proporcionan las mejores condiciones de %RC (Figura 1). Se observó que aquellos floculantes que tienen naturaleza de poli-aminoácidos pueden sedimentar cantidades superiores al 90% del contenido celular, aunque el polímero que ofrece las mejores condiciones es la polietilenimina (%RC=97.5). No se encontró un efecto del peso molecular (PM) sobre la RC. A 90% de viabilidad la

concentración de HCP no fue reducida, mientras que el DNA fue removido en su mayoría (%R DNA>96%).

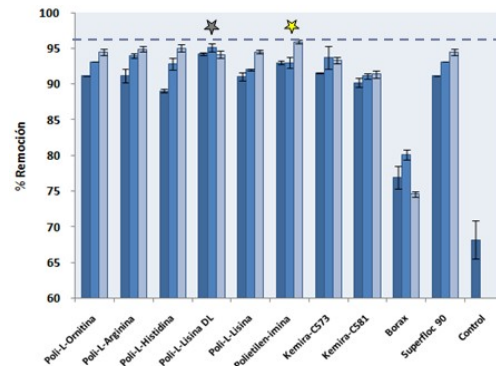


Figura 1. Porcentaje de remoción celular al 90% de viabilidad a diferentes concentraciones de polímero. Control = sin floculante

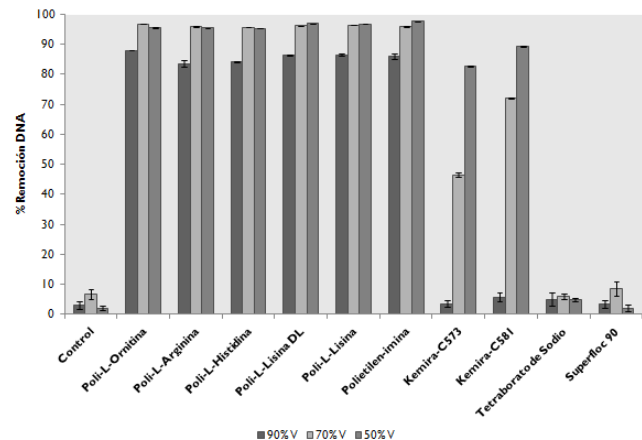


Figura 2. Porcentaje de remoción de DNA a 90% de viabilidad a diferentes concentraciones de polímero. Control = sin floculante

Conclusiones. Los poliaminoácidos junto con PEI son los mejores agentes floculantes, y proporcionan una alta remoción de DNA. Para fines de uso industrial la mejor opción es PEI debido a su bajo costo y baja toxicidad.

Agradecimientos. Se agradece a las empresas Servical de México y Kemira de México por las muestras de polímeros. Financiamiento CONACyT-Salud-126663 y PAPIIT-UNAM-224409.

Bibliografía.

- Haydar S, Aziz J. (2009). *J of Hardazous Materials*. (168):1035-1040
- Bradford M. (1976). *Anal Biochem*. (72):248-254.