



USO DEL DISEÑO DE EXPERIMENTOS PARA LA OBTENCIÓN DEL ESPACIO DE DISEÑO EN UNA CROMATOGRAFÍA DE PULIDO EN EL PROCESO DE PURIFICACIÓN DE UN ANTICUERPO MONOCLONAL

Araceli Álvarez Cruz, María de Lourdes Muciño Alcántara, Néstor O. Pérez y Rodolfo Salazar Ceballos, PROBIOMED, SA DE CV, Tenancingo, Estado de México, C.P. 52400, araceli.alvarez@probiomed.com.mx.

Palabras clave: Diseño experimental, cromatografía de pulido, anticuerpo monoclonal

Introducción. El desarrollo de sistemas robustos de purificación requiere de una alta inversión de tiempo y recursos. El uso de diseño de experimentos (DoE) permite tanto el entendimiento del proceso como la adquisición de nuevo conocimiento al estudiar un espacio de diseño amplio, optimizando tiempo y recursos. Con la finalidad de conocer en que medida el pH, la conductividad (C) y la densidad de carga (q) afectan el desempeño de la cromatografía de pulido (CP) en la purificación de un anticuerpo monoclonal (MAb), se recurrió a un diseño cúbico de caras centradas (CCC) (1). Después de establecer la mejor ventana de trabajo de la CP, ésta se retó usando cargas con alto contenido de ligando de cromatografía de captura (MSPA) y proteínas de hospedero (HCP's) recurriendo a un diseño factorial 3^2 (2) para corroborar el comportamiento predicho y establecer la robustez del proceso.

El objetivo de este trabajo fue evaluar y establecer la robustez de la CP en el proceso de purificación de un MAb.

Metodología. Para la etapa de evaluación de la CP se empleó el eluido de cromatografía de captura complementado con HCP's y preparado a las condiciones requeridas (tabla 1a). Para la etapa de corroboración y robustez de la CP, se empleó el eluido de la cromatografía intermedia complementado con MSPA preparado a las condiciones requeridas (tabla 1b) a q de 300 g de MAb/L de resina. En ambas etapas, las corridas se aleatorizaron. El contenido de MSPA y HCP's se analizó por inmunoensayo enzimático (ELISA). Se obtuvieron los gráficos de Pareto y de superficie de respuesta (SR).

Tabla 1. Matrices de experimentos seguidas para la ejecución del diseño CCC y factorial 3^2 .



pH	C	q
+1	+1	+1
+1	+1	-1
+1	-1	+1
+1	-1	-1
-1	+1	+1
-1	+1	-1
-1	-1	+1
-1	-1	-1
0	0	0
0	0	0
0	0	0
0	0	-1
0	0	+1
0	-1	0
0	+1	0
-1	0	0
+1	0	0



pH	C
-1	-1
-1	0
-1	+1
0	-1
0	0
0	+1
+1	-1
+1	0
+1	+1

a)

b)

Resultados.

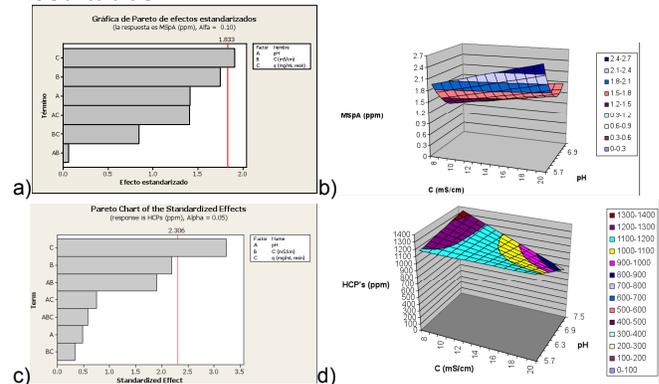


Fig. 1. Etapa de evaluación de la CP. Para el contenido de MSPA y HCP's, la q tiene un efecto significativo ($\alpha=0.10$ y 0.05 , respectivamente) (a y c). A partir de b y d se deduce que la mejor zona de remoción de MSPA y HCP's se encuentra a C intermedia y pH alto.

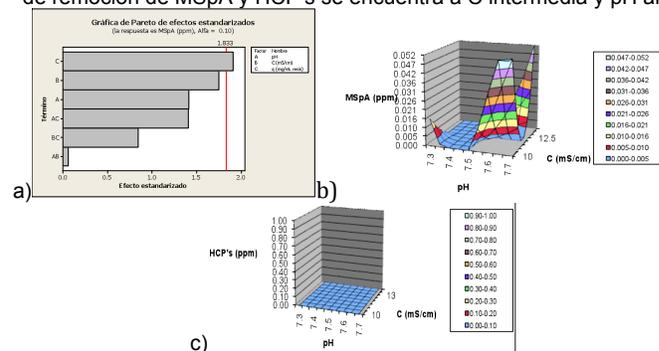


Fig. 2. Etapa de corroboración y robustez de la CP. Para el contenido de MSPA, la q tiene un efecto significativo ($\alpha=0.10$) (a). En toda la ventana experimental se logra obtener un MAb con un contenido de MSPA y HCP's (b) y HCP's (c) aceptables.

Conclusiones. El diseño CCC aproximó a la zona de mejor remoción de MSPA y HCP's y que era posible trabajar a q altas. El diseño factorial 3^2 determinó que la CP es robusta y determinó el espacio de diseño de pH, C y q que entrega un MAb con los atributos de calidad requeridos.

Agradecimiento. A PROBIOMED, SA DE CV, al Dr. Gustav Rodrigo y al Proyecto CONAcYT 134016.

Bibliografía.

- Montgomery, D. (1991). Métodos y Diseños de Superficies de Respuesta. En: *Diseño y Análisis de Experimentos*. Palacios-Martínez, R. Grupo Editorial Iberoamérica, México. 467-505.
- Eriksson, K., Ljunglöf, A., Rodrigo, G. and Brekkan, E. (2009). *BPI*. Vol 7 (2): 52-56.