

Proceso de producción y recuperación de la cromoproteína TsPurple producida en lote alimentado de *Escherichia coli* BL21 en biorreactor.

Tania Fernanda Miranda Trejo; Silvana María Gressi Dávila; Jorge Alberto Márquez Garduño; Ana Sofía Centeno Noriega; Rigel Valentín Gómez Acata; Alberto Ordaz Cortés. Instituto Tecnológico y de Estudios Superiores de Monterrey; Ingeniería y Ciencias, Ciudad López Mateos; 52926.

alberto.ordaz@tec.mx / a01752060@tec.mx

Palabras clave: Escherichia coli BL21, *Ts Purple*, lote alimentado, bioseparación.

Introducción La producción de proteínas recombinantes tiene una gran cantidad de aplicaciones industriales, farmacológicas y genómicas dentro de la biotecnología, por lo que es importante el desarrollo y optimización de bioprocesos a escala laboratorio para obtener parámetros de escalamiento (1). En este trabajo se diseñó e implementó un proceso para la producción de la proteína Tspurple a escala laboratorio que consistió en: (i) un biorreactor, (ii) un sistema de micro y ultrafiltración, (iii) un sistema de rompimiento celular y (iv) un sistema cromatográfico de purificación. Se obtuvieron parámetros de producción, recuperación y purificación a escala laboratorio de una proteína intracelular.

Metodología.

La metodología utilizada durante el proceso se presenta en la figura 1.

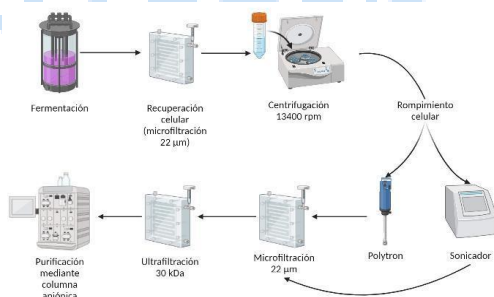


Figura 1. Diagrama de metodología para la producción y recuperación de la proteína Ts Purple.

Resultados.

Se realizó el cálculo de los parámetros cinéticos con los datos del cultivo en lote empleando el modelo cinético de Monod (2), los resultados se muestran en la tabla 1.

Tabla 1. Valores de los parámetros cinéticos de *E. coli* cultivada en lote alimentado en biorreactor.

Parámetro	μ_{max} (h ⁻¹)	K _s (g/L)	Y _{x/s} (gX/gS)
Valor	0.45	0.67	0.5

Posterior al cultivo, se realizó un proceso de bioseparación de la proteína, iniciando con un proceso de concentración, lisis celular, microfiltración y ultrafiltración (3).

Tabla 2. Resistencias de la membrana y de la torta en los procesos de filtración de la proteína Ts Purple de *Escherichia coli* BL21.

Resistencia	Microfiltración para concentración de células (Membrana de 0.22 µm)	Microfiltración de proteínas (Membrana de 0.22 µm)	Ultrafiltración de proteínas (Membrana de 30 kDa)
Membrana R _m (m ⁻¹)	6.24707 x 10 ¹²	6.24707 x 10 ¹²	2.19659 x 10 ¹³
Torta R _c (m ⁻¹)	1.54413 x 10 ¹³	6.847738 x 10 ¹³	4.7611365 x 10 ¹³

Los rendimientos de recuperación de proteína de cada etapa se muestran en la Tabla 2.

Tabla 3. Rendimientos globales de los procesos de bioseparación de la proteína Ts Purple.

Fermentación Y _{x/s} (g X/g S)	Microfiltración para concentración de células Y _{PTX} (g PT/g X)	Ruptura celular Y _{PTX} (g PT/g X)	Microfiltración y ultrafiltración Y _{PTX} (g PT/g X)
0.5	0.547	0.187	0.188

Nota: X = biomasa, S= Sustrato (glucosa), PT = Proteína total.

Conclusiones.

Se obtuvo una alta concentración de proteína desde el procedimiento de recuperación y ruptura celular. Cada uno de los modelados matemáticos que se realizaron para la ruptura celular, la micro y ultrafiltración son de gran utilidad ya que al conocer cada una de las características y consideraciones que se debe tener para llevar a cabo cada actividad, permite el poder plantear un escalamiento de este proceso o similares.

Bibliografía.

- Guevara-Hernández, E., López-Zavala, A. A., Jiménez-Gutiérrez, L. R., & Sotelo-Mundo, R. R. (2013). *Biotecnia*, 15(3), 8-17.
- Cárcamo Bahrens, M. R. (2013).
- García, J., Santana, Z., Zumalacárregui, L., Quintana, M., González, D., Furrázola, G., & Cruz, O. (2013). Estrategias de obtención de proteínas recombinantes en *Escherichia coli*. *VacciMonitor*, 22(2), 30-39.