

Filtración de la proteína *tsPurple* de *Escherichia coli* BL21

Alejandro Verduzco Ferrara, Karen Itzel Marín Jerónimo, Nicolás Hernández Montero, Tania García Santillán, Rigel Valentín Gómez Acata; Alberto Ordaz Cortés. Instituto Tecnológico y de Estudios Superiores de Monterrey; Ingeniería y Ciencias, Ciudad López Mateos; 52926, rigel@tec.mx

Palabras clave: microfiltración, resistencia, ultrafiltración, proteína *tsPurple*

Introducción. Tras realizar una fermentación con una cepa BL21 de *Escherichia coli* diseñada para la producción intracelular de *tsPurple*, es necesario establecer un proceso para la concentración y recuperación de la proteína fluorescente. Es primordial llevar a cabo procesos de concentración que ayuden a separar la mayoría de los contaminantes de la proteína de interés para facilitar su purificación. El objetivo del siguiente trabajo es describir los procesos de concentración celular (microfiltración y ultrafiltración) para la recuperación de la proteína recombinante *tsPurple* producida en *E.coli*, así como caracterizar los elementos utilizados.

Metodología.

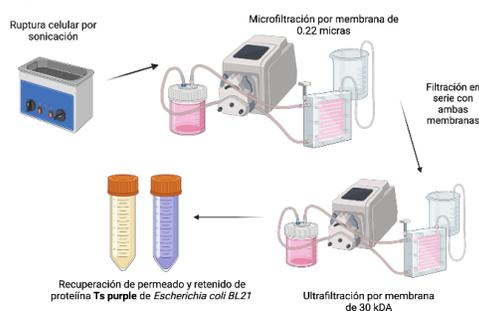


Figura 1. Metodología empleada para micro y ultrafiltración de la proteína *Ts purple* de *Escherichia coli* BL21.

Resultados. Después de la ruptura celular por sonicación, se realizó una microfiltración y ultrafiltración con una membrana de 0.22 µm y 30 kDa Sartorius Minisart, respectivamente. Tras realizar la ultrafiltración, se observa por coloración que el bioproducto de interés permanece en el retenido a pesar de tener un peso de 25.5 kDa. Se teoriza que se debe a la geometría de barril de la proteína. Se alcanzó un factor de concentración celular de 3.5 en el retenido. Los resultados obtenidos se muestran en la Figura 2 y Tabla 1.



Figura 2. Datos experimentales para caracterizar las resistencias de membranas y tortas en la microfiltración a 0.22 µm para concentración de células; microfiltración de restos celulares a 0.22 µm y ultrafiltración a 30 kDa.

Tabla 1. Resistencias de las membranas y de las tortas 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})	6.24707×10^{12}	6.24707×10^{12}	2.19659×10^{13}
Torta R_c (m^{-1})	1.54413×10^{13}	6.847738×10^{13}	4.7611365×10^{13}

A través del método de cuantificación de proteínas de Lowry [2], se cuantificó la cantidad de proteína obtenida en cada filtración realizada. Después de los procesos de filtración se tiene un rendimiento de proteína total con respecto a biomasa cercano al 20%. Dicho porcentaje se ha reportado como parte de la producción total de proteínas recombinantes en *E. coli* [1].

Conclusiones. A partir de los procesos realizados para la obtención de la proteína *Ts Purple* se logró determinar un rendimiento de 0.188 g PT/g X para la etapa de micro y ultrafiltración, el cual concuerda con los datos reportados para la producción de proteínas recombinantes en *E.coli*. Cada uno de los modelados matemáticos que se realizaron para la micro y ultrafiltración son de utilidad para un escalamiento de este proceso o similares.

Bibliografía.

- Pines, O., & Inouye, M. (1999). Expression and Secretion of Proteins in *E. coli*. *Molecular Biotechnology*, 12(1), 25–34. doi:10.1385/mb:12:1:25
- LOWRY OH, ROSEBROUGH NJ, FARR AL, RANDALL RJ. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem*. 1951 Nov;193(1):265-75. PMID: 14907713.