



Strategy for the Purification of Soluble Fibronectin from Human Plasma, as Ligand for Affinity Chromatography

Giselle REYES ALVAREZ, Ileana MARTÍNEZ CABRERA, Andrés GONZÁLEZ RODRÍGUEZ,
Reinier BORRERO MAURA, Aniel MOYA TORRES, María de los A. PADRÓN COLLAZO,
Michel ACOSTA SÁNCHEZ, Rubén CABRERA ARIAS & Luis GARCÍA IMÍAS

*Instituto Nacional de Investigaciones y Producción de Vacunas y Sueros "Instituto Finlay",
Ave 27, N° 19805. La Lisa. Ciudad de La Habana, Cuba.*

SUMMARY. Soluble fibronectin from human plasma was purified and characterized in order to be applied in the purification of adhesion protein. Gelatin was immobilized in a chromatographic bed as Sepharose 2B CL to prepare a column. Different alternatives of elution with 0.5 M and 1 M arginin, glicin-NaCl, sodium acetate - NaCl and urea - NaCl buffers, confirmed the advantages of the arginin as elution solution in this column. Second step of purification in a column of Heparin - Sepharose 4B CNBr was included to obtain the native fibronectin with high purity degree, verified by SDS-PAGE. Purified protein was immobilized in a matrix of Sepharose with a substitution grade of 0.98 mg fibronectin/mL of gel that permitted an adsorption capacity of free gelatin to the column of 8 mg (0.64 mg gelatin/mL of gel). This matrix will allow its preliminary application in the purification of adhesion proteins which could be used as antigens in vaccines against leptospirosis.

RESUMEN. "Estrategia para la Purificación de Fibronectina Soluble a partir de Plasma Humano, como Ligando para Cromatografía de Afinidad". El presente trabajo se desarrolló con el objetivo de purificar y caracterizar fibronectina soluble procedente de plasma para su posterior aplicación en la purificación de proteínas de adhesión. Se inmovilizó gelatina en Sefarosa 2BCL como soporte cromatográfico para la preparación de una columna. Se estudiaron diferentes alternativas de elución con arginina 0.5 M y 1M, con glicina -NaCl, acetato de sodio - NaCl y urea - NaCl, lo cual confirmó las ventajas en el uso de la arginina como agente eluyente. Se incorporó una segunda etapa de purificación en una columna de Heparina - Sefarosa 4B CNBr a partir de la que se obtuvo fibronectina con alto grado de pureza en estado nativo, comprobado por SDS-PAGE. La proteína purificada se inmovilizó en una matriz de Sefarosa con un grado de sustitución de 0,98 mg fibronectina/mL de gel lo cual permitió una capacidad de adsorción de gelatina libre con una recuperación de 8 mg (0,64 mg gelatina/mL de gel). La utilización de esta matriz permitirá su aplicación preliminar en la purificación de proteínas de adhesión que podrían ser usadas como antígenos en vacunas contra leptospirosis.

KEY WORDS: Fibronectin, chromatography, collagen, adhesion, vaccine.

PALABRAS CLAVE: Fibronectina, cromatografía, colágeno, adhesión, vacuna.

* Author to whom correspondence should be addressed. *E-mail:* greyes@finlay.edu.cu