doi:10.20396/revpibic262018652

XXVI Congresso de Iniciação Científica Unicamp
17 a 19 de outubro Campinas | Brasil

ADSORÇÃO DE IgG HUMANA EM CRIOGEL MONOLÍTICO DE POLIACRILAMIDA-ARGININA

Jaqueline Oliveira de Paula Lourenço*, Sônia Maria Alves Bueno

Resumo
Dada a importância do anticorpo imunoglobulina G humana (IgG) e a necessidade de sua purificação, este projeto visa o desenvolvimento de um adsorvente monolítico macroporoso a base de poliacrilamida produzido pela técnica de criopolimerização, seguido de imobilização do ligante arginina visando a adsorção de IgG através da cromatografia de afinidade, em diferentes condições tamponantes. Também foram obtidos, por meio de ajuste de parâmetros dos modelos de adsorção de Langmuir e Langmuir-Freundlich, a capacidade máxima de adsorção e a constante de dissociação entre a arginina imobilizada e a IgG humana.

Palavras-chave:
Monolito, cromatografia, adsorção.

Introdução

Imunoglobulina G (IgG) humana

- Trata-se de um anticorpo;
- Aplicações: diagnóstico, área analítica, terapêutica, biossensores e proteômica;
- Pode ser obtida a partir do sangue humano, por isso métodos para sua purificação são fundamentais.

Método para purificação de IgG:
Propõe-se a cromatografia de afinidade com ligante pseudobioespecífico imobilizado devido suas vantagens: baixo custo, reduzido número de etapas e consequente aumento no rendimento global.

Objetivo

- Desenvolvimento de criogel monolítico, a base de poliacrilamida e imobilização do aminoácido arginina;
- Ensaios cromatográficos visando a adsorção de IgG;
- Isoterma de adsorção para obtenção da capacidade máxima de adsorção e da constante de dissociação entre o ligante e a biomolécula alvo.

Resultados e Discussão

1. Preparação do criogel monolítico

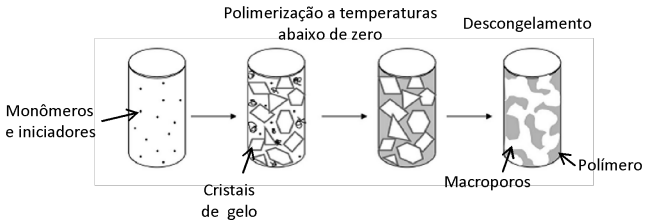

Figura 1. Representação esquemática da formação de criogel.Adaptado de Plieva et al., 2005.

Foi obtido um material de estrutura esponjosa, homogênea e macroporosa. Neste, foi imobilizado o aminoácido arginina.

2. Cromatografia de afinidade

- Cromatografia em duplicata, com IgG humana;
- Condições: Mops pH 6,5, 7,0 e 7,5, Tris-HCl pH 7,0, 7,5 e 8,0 e Fosfato de sódio pH 6,0, 7,0 e 8,0;
- Quantificação de IgG pelo método de Bradford.

Tabela 1. % de IgG em cada etapa cromatográfica na melhor condição de pH de cada tampão.

Tampão	Mops pH6,5	Tris-HCl pH7,0	NaP pH6,0
Lavagem	9,78%	67,59%	67,98%
Eluição	89,72%	35,51%	39,81%

O monolito de criogel possibilitou a obtenção de altos rendimentos e pureza na recuperação de IgG humana. O maior percentual de adsorção de IgG foi obtido em Mops, quando em pH 6,5.

3. Isoterma de adsorção

- Ensaios de adsorção em batelada foram realizados com Mops pH 6,5;
- Através de ajustes aos modelos de Langmuir e Langmuir-Freundlich foram obtidos capacidade máxima de adsorção de 267,72 ± 135,12 e 101,47 ± 15,33 $mg.g^{-1}$ de criogel e constante de dissociação na ordem de grandeza 10^{-5} mol/L.

Conclusões

Foi obtido uma fase estacionária porosa com boas características mecânicas, que possibilitou sua funcionalização para purificação da IgG. A capacidade máxima de adsorção, na melhor condição tamponante (Mops pH 6,5) com o ajuste ao modelo de Langmuir-Freundlich, que foi o mais coerente e com menor erro foi 101,47 ± 15,33 $mg.g^{-1}$ criogel, com constante de dissociação na ordem de grandeza de 10^{-5} mol/L, mostrando parâmetro de cooperatividade n de 2,66706 ± 0,74. Uma vez que n > 1, o sistema indica cooperatividade positiva de adsorção, ou seja, uma molécula de IgG favorece a adsorção de outra molécula.

Agradecimentos

Agradeço ao CNPq e ao PIBIC pelo apoio financeiro e a Professora Sônia M . A. Bueno pela oportunidade.

Plieva FM, Karlsson M, Aguilar MR, Gomez D et al. Soft Matter 1, 303, 2005.
Ertürk G, Mattiasson B. Journal of Chromatography A, 1357, 24-35, 2014.

(cc) BY-NC-ND