

Cromatografia de Interação Mista: Adsorção de IgG Humana em O-Fosfo-L-Tirosina (OPT)-agarose

Angelica Grespan (IC), Gisele L. Pavan (PG), Sônia M. A. Bueno (PQ)

Resumo

A combinação entre dois ou mais tipos de interação do ligante e da molécula alvo caracteriza a cromatografia de interação mista (MMC). Esta técnica tem sido muito estudada e aplicada na captura de IgG humana. Desta forma os aminoácidos tem sido utilizando com sucesso como ligantes em MMC. O aminoácido OPT apresenta em sua estrutura anel aromático que atribui característica hidrofóbica e os grupamentos fosfato e carboxílico atribuindo caráter eletrostático, não sendo descartados outros tipos de interação como por exemplo a ligação π - π . Dentre os sistemas tamponantes e pH estudados o Mops a pH 6,5 apresentou maior capacidade de adsorção. A fim de analisar contribuição do grupamento fosfato, presente na estrutura do OPT, foi utilizado o ligante L-fenilalanina (PHE), como controle, não sendo observada boa adsorção de IgG humana para PHE em nenhuma condição testada, o que sugere que a interação entre a proteína e o ligante ocorre, majoritariamente, devido às interações eletrostáticas.

Palavras Chave: imunoglobulina G, interação mista, OPT.

Introdução

Nos últimos anos, a cromatografia de interação mista tem atraído considerável interesse como método para a purificação de anticorpos monoclonais com o objetivo de reduzir o custo a múltiplas etapas e alto custo de ligantes, de forma que continue atingindo níveis elevados de pureza da proteína de interesse¹. O objetivo deste trabalho foi estudar o efeito do grupamento fosfato presente na cadeia lateral do aminoácido OPT na adsorção de IgG humana, tendo como controle a L-fenilalanina (PHE).

Resultados e Discussão

A contribuição dos diferentes grupos funcionais presentes na estrutura dos ligantes propostos (Fig. 1) foi analisando de acordo com a adsorção de IgG humana nos ligantes OPT e PHE em três sistemas tamponantes com valores de pH entre 6,0 e 8,0 (Fig. 2), de acordo com a faixa tamponantes do tampão empregado.

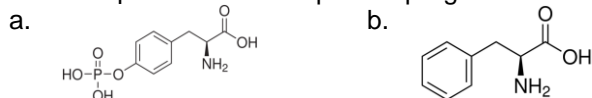


Figura 1: Estrutura dos derivados de aminoácidos. (a) OPT e (b) PHE.

Obteve-se maior capacidade de adsorção de IgG humana para o ligante OPT quando comparado com o PHE o que indica que a captura dessa proteína ocorre, predominantemente, por meio de interações eletrostáticas devido ao fosfato presente em sua estrutura. De todos os sistemas tamponantes testados o Mops a pH 7,5 proporcionou a maior capacidade de adsorção de IgG para o ligante OPT. A baixa adsorção nos demais tampões provavelmente esteja relacionada com as suas

cargas: Tris-HCl e fosfato de sódio (NaP) apresentam cargas positiva e negativa, respectivamente, enquanto que Mops apresenta carga líquida zero (tampão zwitteriônico).

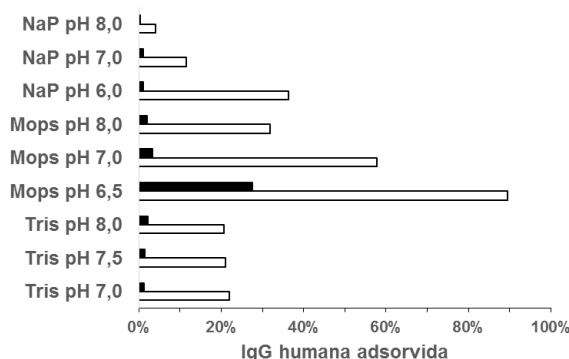


Figura 2: Porcentagem de IgG humana adsorvida em diferentes sistemas tamponantes para (■) PHE-agarose e (□) OPT-agarose.

Conclusões

Os testes demonstraram que OPT pode ser empregado como ligante na captura de IgG humana.

Agradecimentos

À Gisele por toda a ajuda, ensinamentos e orientação, à professora Dra. Sônia Maria Alves Bueno e ICNPq pela oportunidade de desenvolvimento do trabalho. Departamento de Engenharia de Materiais e de Bioprocessos, Faculdade de Engenharia Química, UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS.

¹ Zhang, C. ; Fredericks, D. ; Campi, E. M. ; Florio, P. ; Jespergaard, C. ; Schiødt, C. B. e Hearn, M. T. W. , Separation and Purification Technology **2015**, v. 142, p. 332–339.