



# ADSORÇÃO DE IgG DO SORO BOVINO EM CRIOGEL MONOLÍTICO DE POLIACRILAMIDA/ALGINATO DERIVATIZADO COM IDA

Daniele Borges\*, Sônia Maria Alves Bueno

## Resumo

A obtenção de imunoglobulina G (IgG) com alto grau de pureza e rendimento é fundamental para aplicação dessa importante biomolécula, por isso métodos cromatográficos são utilizados para sua purificação. Neste trabalho, foi empregado o criogel monolítico a base de poli(acrilamida) e alginato, com ácido iminodiacético (IDA) imobilizado (PAAm-Alg-AGE-IDA) e, por técnicas cromatográficas de afinidade com íons metálicos imobilizados (IMAC), foi avaliado a adsorção seletiva de IgG a partir de soro bovino, em íons de cobre (Cu(II)) quelatados.

**Palavras-chave:** IMAC, IgG, adsorção

## Introdução

IMAC: técnica cromatográfica de afinidade por íons metálicos imobilizados.

Vantagens: baixo custo, alta capacidade de adsorção e seletividade, pode ser empregada na purificação de biomoléculas (BRESOLIN *et al.*, 2009).

Esse trabalho tem como objetivo avaliar diferentes condições tamponantes na adsorção de IgG a partir de soro bovino, empregando IMAC com íons Cu(II) quelatados em criogel de PAAm-Alg-AGE-IDA.

## Metodologia

### Preparação do criogel monolítico:



**Figura 1.** Esquema da formação de criogel. Adaptado de ERTÜRK e MATTIASSON, 2014

**Tabela 1. Condições cromatográficas realizadas em PAAm-Alg-AGE-IDA-Cu(II)**

Tampões: Adsorção	Tampões: Eluição
NaP pH 6,0*	Acetato de sódio pH 4,0*
Hepes pH 7,0*	Acetato de sódio pH 4,0*
Hepes + 2 mmol/L de imidazol pH 7,0*	Hepes + 50 mmol/L imidazol pH 7,0*
NaP + 2 mmol/L de imidazol pH 6,0	NaP + 20 mmol/L de imidazol pH 6,0
Hepes + 0,1 mol/L de NaCl pH 7,0	Acetato de sódio + 0,1 mol/L de NaCl pH 4,0
NaP + 0,1 mol/L de NaCl pH 6,0	Acetato de sódio + 0,1 mol/L de NaCl pH 4,0
NaP + 0,1 mol/L de NaCl + 2 mmol/L de imidazol pH 7,0	NaP + 0,1 mol/L de NaCl + 20 mmol/L de imidazol pH 7,0

\* Cromatografias feitas também em PAAm-Alg-AGE-IDA

## Resultados e Discussão

O criogel obtido apresentou estrutura esponjosa, homogênea e macroporosa. Neste, foi imobilizado IDA, capaz de quelatar 23,44  $\mu\text{mol}$  Cu(II) por mL de criogel.

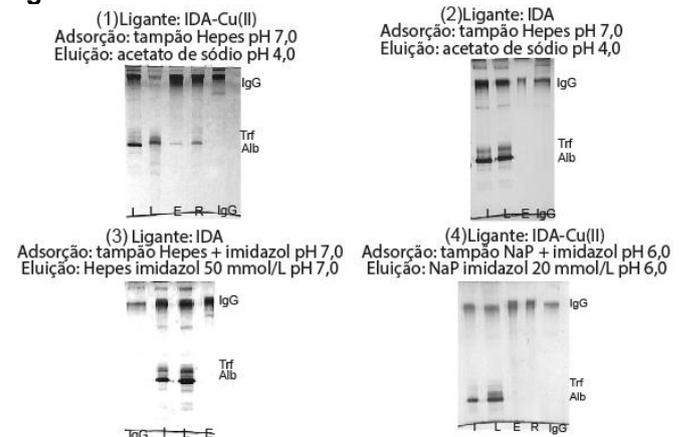
**Tabela 2.** Balanço de massa das condições que proporcionaram maior adsorção e pureza

## Proteínas totais (%)

Li	IDA-Cu(II)	IDA	IDA	IDA-Cu(II)
T	HEPES	HEPES	Hepes com imidazol	NaP com imidazol
L	60,19 $\pm$ 2,52	96,0 $\pm$ 3,72	84,60 $\pm$ 3,55	70,58 $\pm$ 0,46
E	21,11 $\pm$ 2,19	1,72 $\pm$ 0,02	10,94 $\pm$ 0,45	14,53 $\pm$ 0,41
R	10,12 $\pm$ 0,99	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	8,19 $\pm$ 0,27

Li: ligante, T: tampão, L: lavagem, E: eluição e R: regeneração  
Cálculos por média simples dos experimentos feitos em duplicata e o desvio é a variação em relação à média.

**Figura 2.** Perfil eletroforético



Apesar da condição 1 ter adsorvido maior porcentagem de proteínas, nas demais, tem-se maior pureza, pois a IgG eluída é eletroforeticamente mais homogênea, logo o adsorvente é mais seletivo nessas condições tamponantes.

## Conclusão

As proteínas adsorvidas foram desadsorvidas alterando o pH ou adicionando agentes competitivos na fase móvel. Observa-se que a utilização de imidazol como agente competitivo proporcionou melhores resultados para a separação da IgG bovina.

## Agradecimentos

Agradeço ao PIBIC, CNPq e a CAPES/PROEX, código 001, pelo apoio financeiro, a Profa. Sonia M. A. Bueno pela oportunidade.

Bresolin, I.T.L.; Miranda, E.A.; Bueno, S.M.A. Química Nova, v. 32, n.5, p. 1288-1296, 2009

Ertürk G, Mattiasson B. Journal of Chromatography A, 1357, 24-35, 2014.