

UNICAMP

Purificação de Imunoglobulina(IgG) Humana por Cromatografia em Gel Arginina-Agarose

Aluno: Paulo de Castro Fernandes

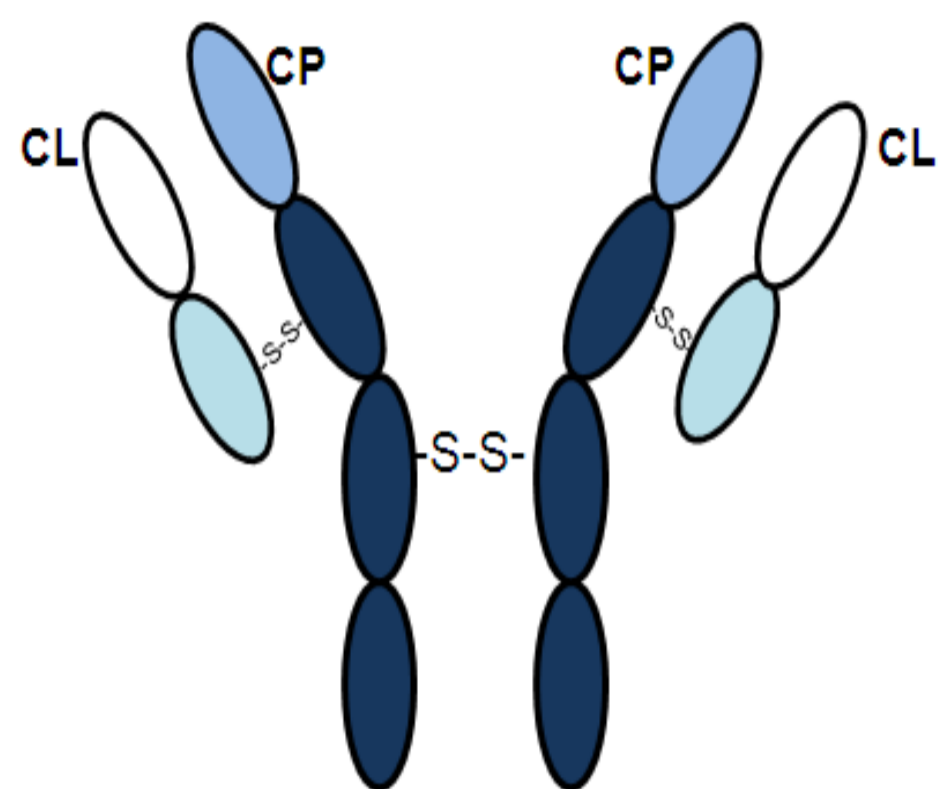
Orientador: Profa. Dra. Sônia Maria Alves Bueno

DPB/FEQ/UNICAMP - Agência Financiadora: Pibic/CNPq

E-mail: paulo3c@gmail.com, sonia@feq.unicamp.br

Palavras Chave: Purificação - Cromatografia - Proteína

Introdução e Objetivo



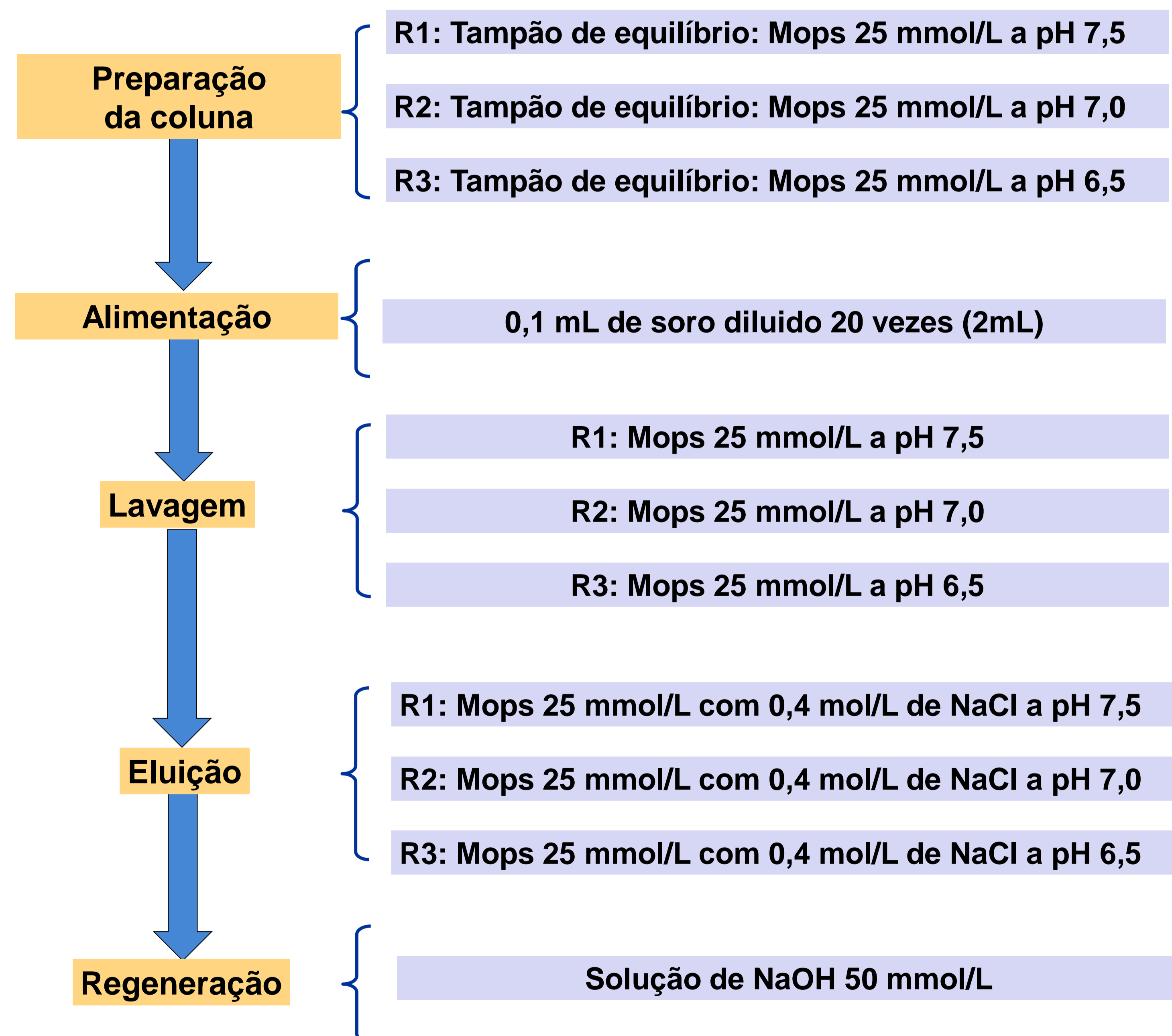
IgG Humana

O plasma humano é um material biológico complexo, constituído de várias proteínas, as quais exibem diferentes funções fisiológicas no organismo. O fracionamento industrial do plasma humano, com o objetivo de produzir hemoderivados para fins terapêuticos, tem sido realizado em vários países do mundo a partir do material coletado de doadores. Atualmente, a purificação de proteínas do plasma utilizando métodos mais seletivos (cromatográficos), tem sido vista pela indústria farmacêutica como uma operação indispensável antes da utilização dessas proteínas no campo terapêutico.

Este projeto visou investigar o potencial de utilização da técnica de cromatografia negativa em gel de agarose com arginina imobilizada para purificação de IgG (imunoglobulina G) a partir do soro humano.

Materiais e Métodos

Experimentos cromatográficos



Análise das frações cromatográficas

✓ Dosagem de proteína total: método de Bradford [1]

✓ Eletroforese SDS-PAGE: condições não redutoras, gel a 7,5% de poli(acrilamida) [2], e revelação com nitrato de prata [3].

Resultados e Discussão

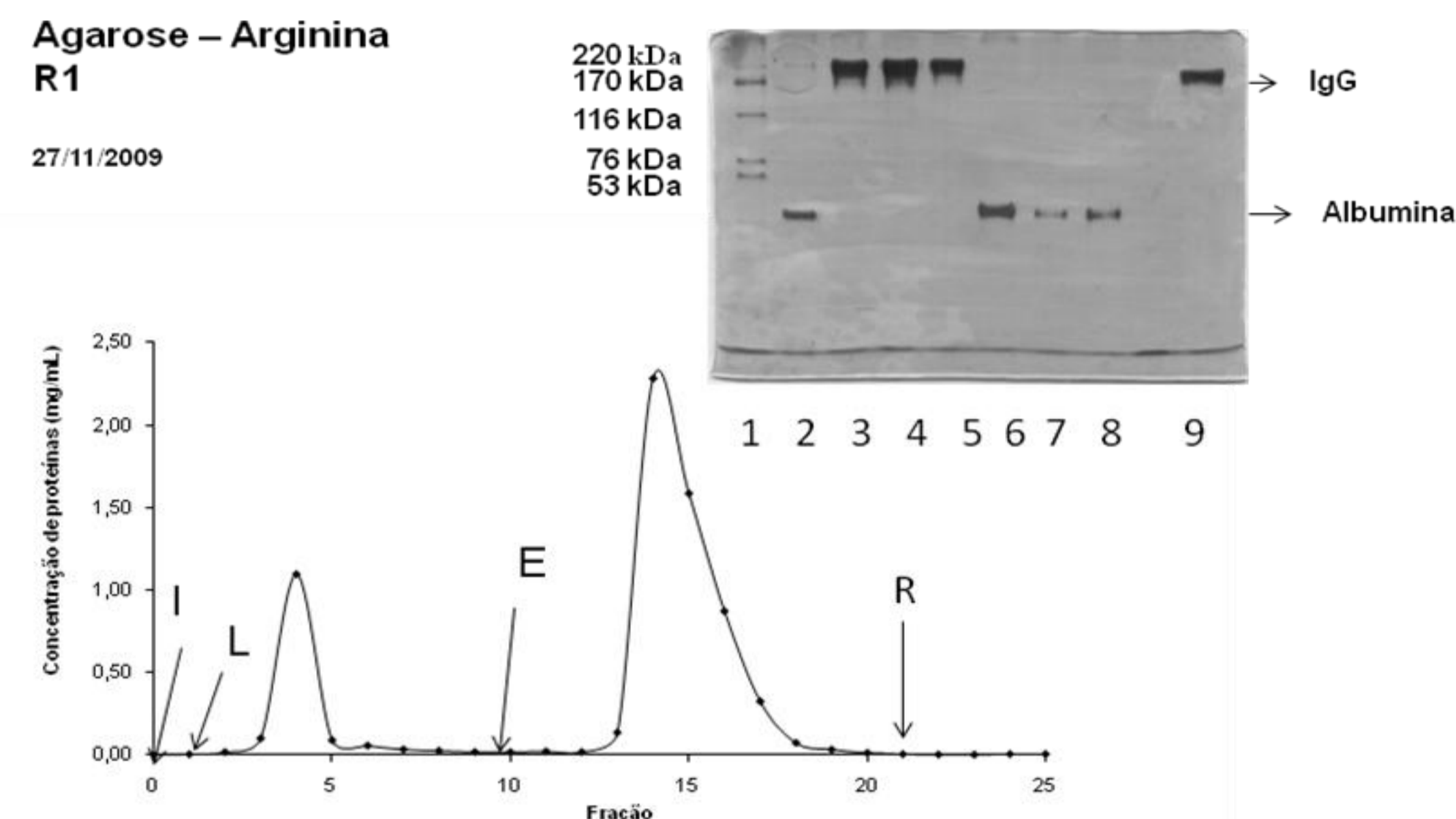


Figura 1: Cromatografia de soro humano em Mops 25 mM pH 7,5, em coluna contendo Agarose-Arginina. I - Injeção: 2 ml de soro humano diluído 20x. Vazão: 0,5 mL/min. Perfil cromatográfico: L - Tampão de lavagem Mops 25 mM pH 7,5; E - Eluição ou dessorção: Mops 25 mM + NaCl 0,4M pH 7,5; R - Regeneração: NaOH 50 mM. Eletroforese: 1. marcador de alta massa molecular (GE), 2. injeção, 3-5. lavagem, 6-8. eluição, 9. marcador de IgG (Aventis).

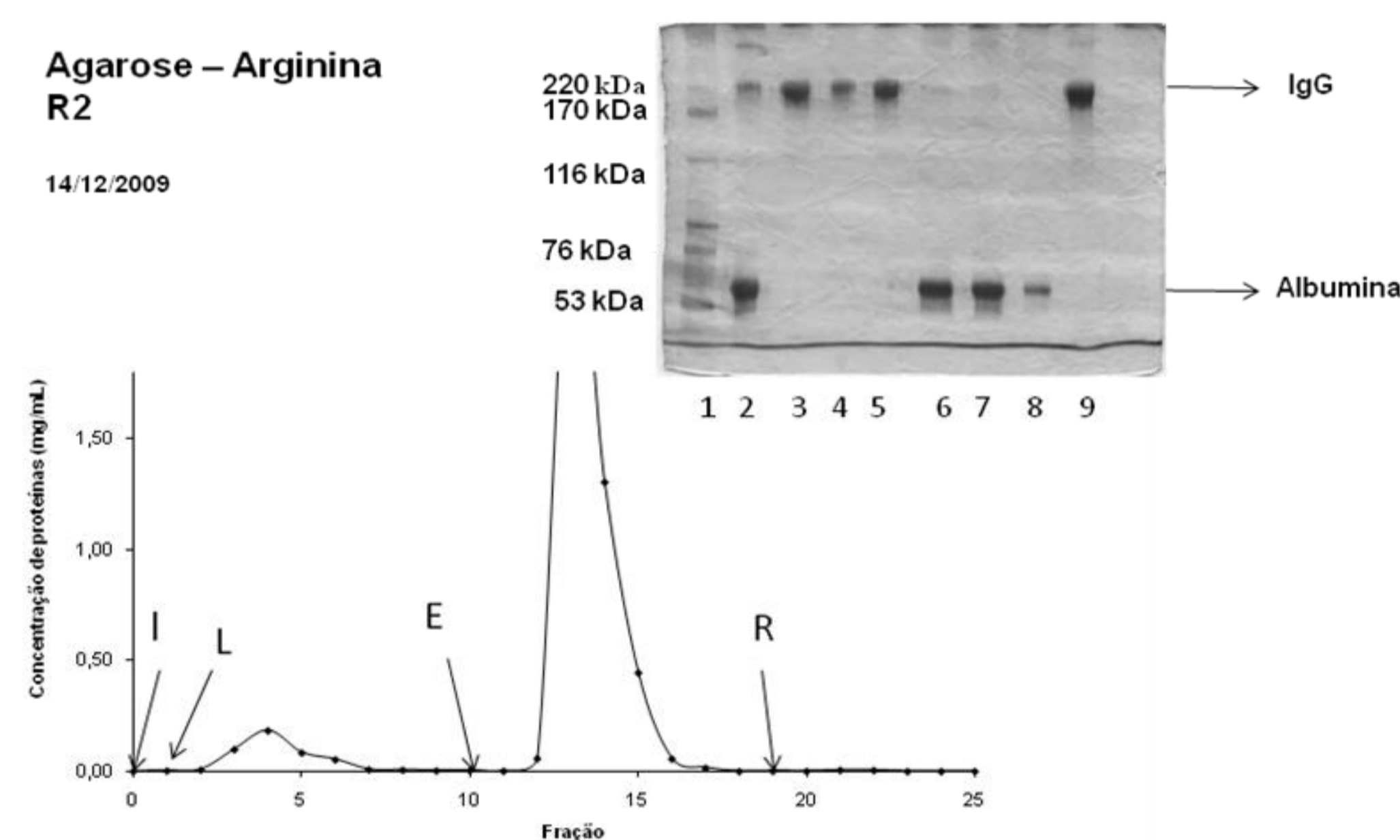


Figura 2: Cromatografia de soro humano em Mops 25 mM pH 7,0, em coluna contendo Agarose-Arginina. I - Injeção: 2 ml de soro humano diluído 20 x. Vazão: 0,5 mL/min. Perfil cromatográfico: L - Tampão de lavagem Mops 25 mM pH 7,0; E - Eluição ou dessorção: Mops 25 mM + NaCl 0,4M pH 7,0; R - Regeneração: NaOH 50 mM. Eletroforese: 1. marcador de alta massa molecular (GE), 2. injeção, 3-5. lavagem, 6-8. eluição, 9. marcador de IgG (Aventis).

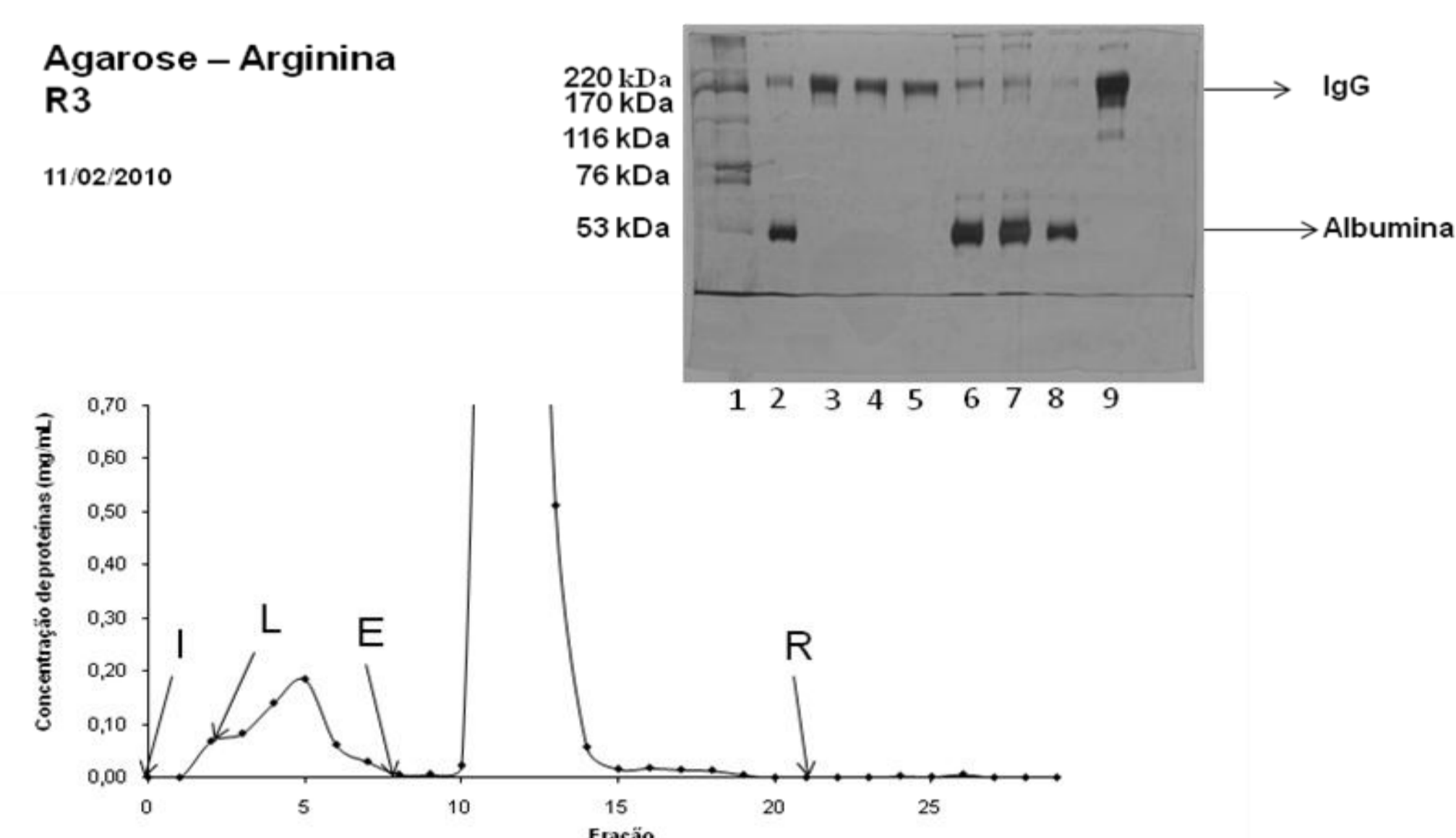


Figura 3: Cromatografia de soro humano em Mops 25 mM pH 6,5, em coluna contendo Agarose-Arginina. I - Injeção: 2 ml de soro humano diluído 20 x. Vazão: 0,5 mL/min. Perfil cromatográfico: L - Tampão de lavagem Mops 25 mM pH 6,5; E - Eluição ou dessorção: Mops 25 mM + NaCl 0,4M pH 6,5; R - Regeneração: NaOH 50 mM. Eletroforese: 1. marcador de alta massa molecular (GE), 2. injeção, 3-5. lavagem, 6-8. eluição, 9. marcador de IgG (Aventis).

Conclusão

✓ IgG foi purificada por cromatografia negativa em Agarose-Arginina em tampão Mops nos três valores de pH estudados.

Referências Bibliográficas

- [1] BRADFORD, M. M. Anal. Biochem., 72, 248-254, 1976.
- [2] LAEMMLI, U. K. Nature, 227, 680-685, 1970.
- [3] MORRISSEY, J. H. Anal. Biochem., 117, 307-310, 1981.