

PRODUÇÃO DE PROTEÍNAS RECOMBINANTES HUMANAS

Boa, Barata e em Larga Escala

Suplementos proteicos, mais baratos, mais puros, mais saudáveis...

Muitos dos produtos que consumimos e utilizamos todos os dias, na forma de medicamentos e alimentos, por exemplo, são compostos por proteínas especialmente programadas para serem mais eficientes, mais nutritivas e capazes de provocar menos reações adversas.

Essas proteínas, chamadas recombinantes - que são produzidas por outros organismos que não aqueles próprios que a produzem precisam ser produzidas em alta escala por biorreatores em indústrias biotecnológicas para atender à crescente demanda do mercado. É o que acontece, por exemplo, quando se quer muito coxinha, tem-se que produzir em grande quantidade para atender aos pedidos das pessoas.

No entanto, existem riscos em se produzir grandes quantidades dessas proteínas.

Normalmente são utilizadas bactérias e leveduras para a produção de proteínas recombinantes. Calma, essas não fazem mal à saúde! São apenas os biorreatores que produzem as proteínas em grandes quantidades. Esses micro-organismos possuem uma taxa de crescimento muito superior às células de mamíferos, isto quer dizer que crescem e proliferam muito mais rapidamente que nossas células. Porém, da forma em que são produzidas, alterações químicas necessárias na estrutura proteica podem não serem atingidas e, por isso essas proteínas podem ser mal reconhecidas pelo nosso sistema imunológico e metabólico. Principalmente aquelas proteínas de função terapêutica como a insulina, demais fatores de crescimento e marcadores de doenças como hipertensão e alguns tipos de câncer, a correspondência entre a proteína recombinante e a sua versão original, aquela produzida pelo nosso próprio organismo, deve ser a maior possível.

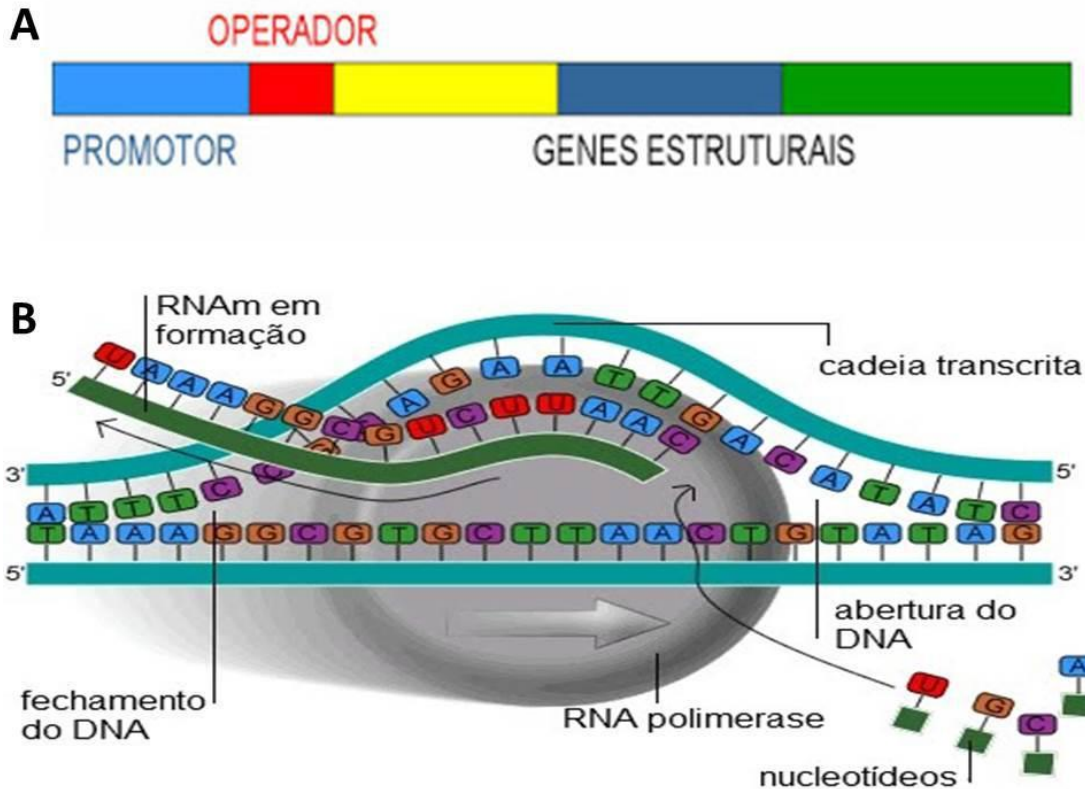
O reconhecimento da proteína recombinante, fabricada em micro-organismos ou em plantas, pelo nosso sistema imune pode levar a uma resposta alérgica, por exemplo.

Já, se a proteína recombinante não adquire sua conformação ou estrutura correta, ela perde sua função ou tem a perda de sua atividade enzimática (da proteína). Ambas as situações representam um risco à saúde humana quanto a sua utilização. Por isso, grupos de pesquisa do mundo inteiro, desde os anos 80, intensificaram seus estudos na proposição de metodologias que permitissem a produção de proteínas recombinantes em cultura de células de mamíferos, cujas mudanças químicas necessárias são altamente

similares àquelas feitas pelas células do nosso próprio organismo e, por isso, efeitos colaterais como alergia, ou falta de atividade como perdas de sua função, já que perdeu sua estrutura podem ser evitadas.

As culturas de células de mamíferos crescem em taxas inferiores à taxa de crescimento de micro-organismos e são mais sensíveis às alterações nutricionais e condições ambientais de estresse como temperatura e pH. A expressão de proteínas recombinantes nessas culturas é feita através de vetores de DNA contendo o gene que codifica a proteína de interesse. Os vetores são carreadores ou carregadores que levam uma sequência de DNA (o gene) que codifica para a proteína de interesse.

A expressão ou produção de proteínas recombinantes pode ser moldada de acordo com a necessidade, ou realizada de forma contínua, que é determinado por sequências de DNA que antecedem os genes, e são chamadas promotores. Esses promotores indicam para a maquinaria celular, qual a quantidade e a partir de que ponto a expressão da proteína tem que ser feita. E essa expressão ou produção das proteínas pode ser constitutiva, que é produzida continuamente, ou induzida, ou seja, sua produção só ocorre quando se tem interesse através da adição de um indutor. A principal diferença entre estes tipos de promotores, constitutivo ou induzível, é que o primeiro mantém de forma constante a expressão ao longo do crescimento celular, enquanto o segundo necessita que um indutor seja adicionado ao meio de cultura, podendo ser uma droga, hormônio, temperatura ou pH.



A síntese de proteínas em organismos eucariontes envolve duas etapas básicas: uma nuclear, a transcrição, e outra citoplasmática, a tradução. Em (A) temos um exemplo simplificado de como é a estrutura de um gene e de como ele funciona. O promotor, promove a expressão gênica ou produção do mRNA (vista na figura B). O operador controla a produção através de adição de um indutor, por exemplo. Essas etapas ocorrem no núcleo. Os genes estruturais serão as proteínas que precisamos, quando serão traduzidas no citoplasma da célula. Em (B), o fluxo da informação genética é quase exclusivamente em um sentido: DNA > RNA > Proteína, ou seja, o DNA especifica a síntese de RNA, que por sua vez especifica a síntese de polipeptídeos, os quais formam proteínas. Esse é o dogma central da biologia molecular.

A adição de um indutor ao meio de cultura representa a vantagem de se ativar a produção de uma proteína recombinante quando a cultura já está bem estabelecida, não representando um estresse metabólico, como pode acontecer usando promotores constitutivos.

Um modelo bastante interessante de indução à expressão de proteínas recombinantes é baseado em um tipo especial de promotor que é ativado na presença de metal pesado. Em baixíssimas concentrações, o promotor de metalotioneína, que é uma

proteína que se liga ao zinco, é capaz de aumentar em quase dez vezes a produção de uma proteína recombinante. Isso representa uma potencialidade enorme para a aplicação na indústria e na pesquisa. As células podem crescer até atingir uma quantidade ótima para a expressão proteica. Nesse momento, o metal pesado pode ser adicionado e a produção proteica pode atingir níveis em alta quantidade e mantendo suas qualidades.

Metais pesados como cádmio, chumbo, cobre, tem custos bem inferiores às drogas indutoras usualmente utilizadas, o que cria uma vantagem adicional ao sistema.

Aliado a esse sistema de indução altamente eficiente, algumas mudanças na sequência dos genes que codificam as proteínas de interesse, podem desonerar ainda mais a sua produção. Após serem produzidas, elas ainda devem ser coletadas e purificadas do meio de cultivo celular. Para garantir a reutilização das células produtoras, as proteínas podem ser programadas para serem liberadas no meio extracelular, não havendo a necessidade de rompê-las para se obter a fração proteica. Essa programação corresponde a um peptídeo sinal, que indica para a célula onde a nova proteína deve ser dispensada, se dentro, ou fora da célula, por exemplo.

Após a liberação no meio, a proteína deve ser especificamente selecionada dos demais componentes do meio de cultura e uma segunda sequência sinal pode ser inserida para que esta proteína em especial tenha uma afinidade a uma das fases que compõe o processo de purificação de proteínas por cromatografia líquida. Assim uma proteína recombinante pode ser produzida a partir de células de mamíferos.

E é exatamente isso que estamos fazendo com a produção da proteína recombinante humana PSA (do inglês, *Prostate-Specific Antigen*, ou antígeno prostático específico). Um marcador para o câncer de próstata humano. Produzimos em alta quantidade, de boa qualidade e sem efeitos colaterais.

A sua aplicação, principalmente clínica, necessita de experimentos que validem a sua eficácia e seletividade. As chances de compatibilidade com o nosso corpo tendem a serem bem grandes, pois as células que produziram a proteína são similares às nossas e, por isso os riscos de seu aproveitamento são bem baixos.

Referências

1. Santos AK, Resende RR. VACINA CONTRA TUBERCULOSE EM CÁPSULAS DE ALFACE. Nanocell News. 2013 12/14/2013;1(4). Epub 12/13/2013.
2. Sousa BR, Resende RR. PRODUÇÃO DE PRÓ-INSULINA EM ALFACE E TABACO PARA TRATAMENTO DE DIABETES. Nanocell News. 2013 12/14/2013;1(4). Epub 12/16/2013.
3. Parreira RC, Resende RR. NOSSO CORPO NOS PROTEGE, MAS PODE TAMBÉM NOS MATAR! Nanocell News. 2014 03/11/2014;1(8). Epub 03/10/2014.
4. Resende RR. TERAPIA GÊNICA COM CÉLULAS-TRONCO HUMANAS: segura e eficaz. Nanocell News. 2014 04/01/2014;1(9). Epub 03/31/2014.
5. Medeiros RVB, Resende RR. MESMO EM DEZEMBRO, A PREVENÇÃO CONTINUA! Novembro Azul E a Conscientização Sobre O Câncer De Próstata. Nanocell News. 2014 12/02/2014;2(4). Epub 12/02/2014.

<http://www.nanocell.org.br/producao-de-proteinas-recombinantes-humanas-boa-barata-e-em-larga-escala/>