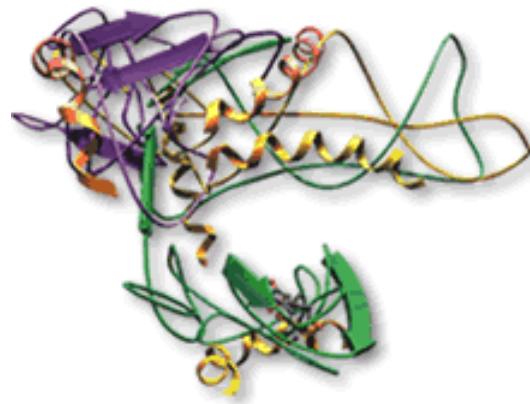


Proteínas Recombinantes: Produção e Aplicações



Alejandro Olejua nº23448; Nuno Domingues nº24178

Proteínas

Definição:

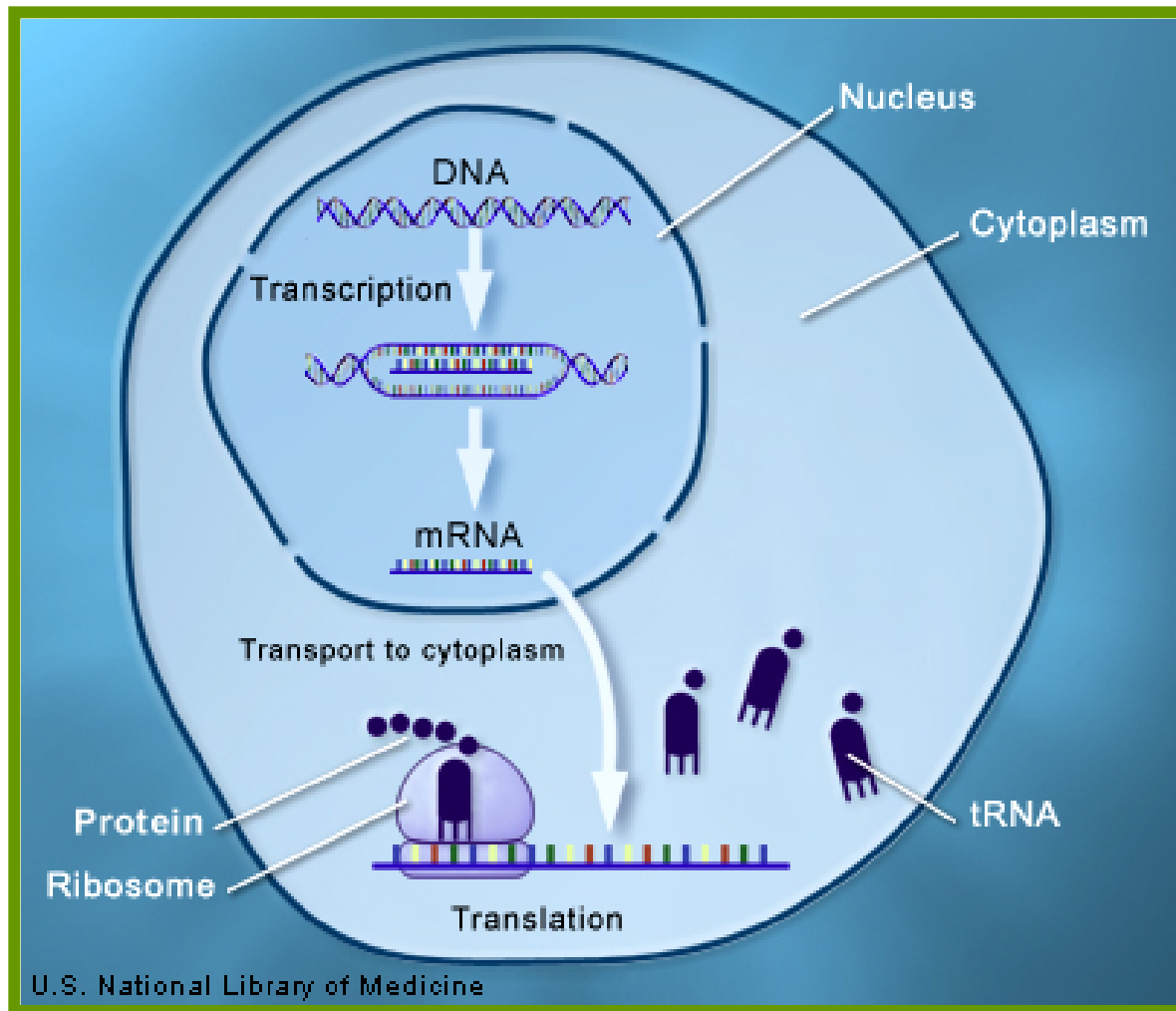
Composto de elevado peso molecular, formado por aminoácidos ligados através de ligações peptídicas. Descobertas por Jöns Jakob Berzelius em 1838.

Fazem parte dos constituintes primários de organismos vivos, juntamente com:

- Lípidos;
- Glícidos;
- Ácidos nucleicos.

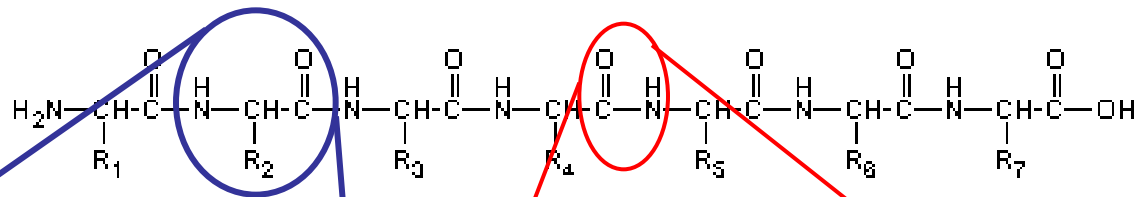
Proteínas

Do DNA à proteína:

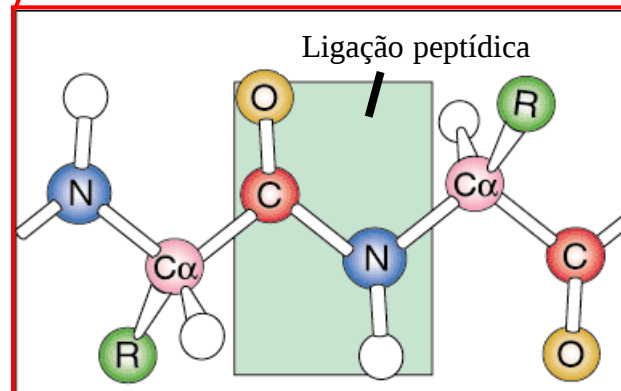
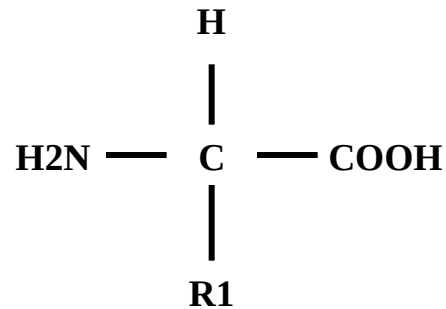


Proteínas - Estrutura

Estrutura Primária



Aminoácido:

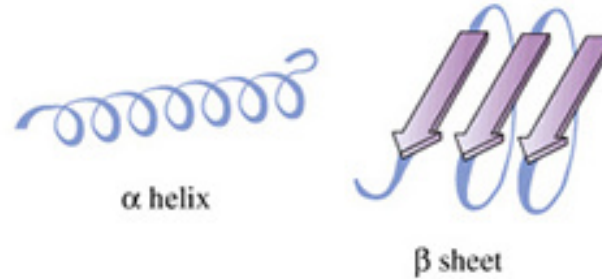


Proteínas - Estrutura

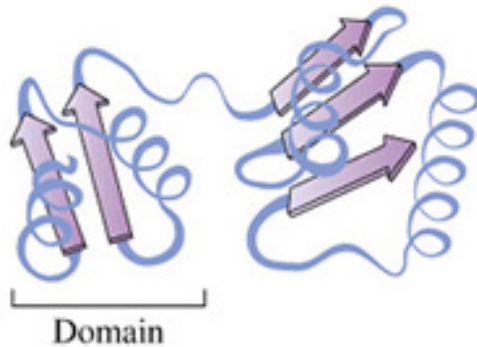
Estrutura Primária

– Ala – Glu – Val – Thr – Asp – Pro – Gly –

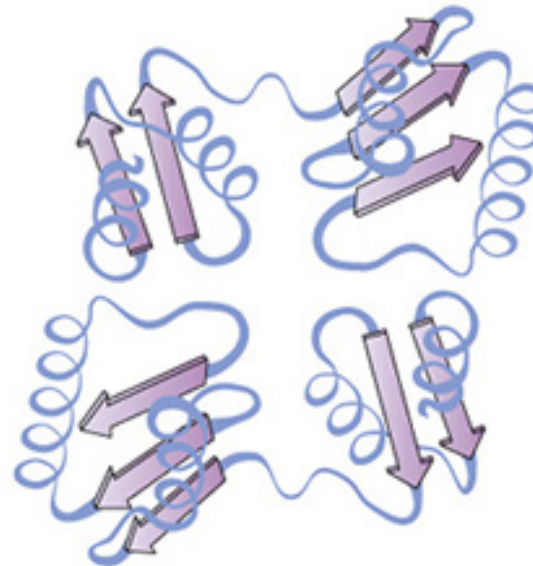
Estrutura Secundária



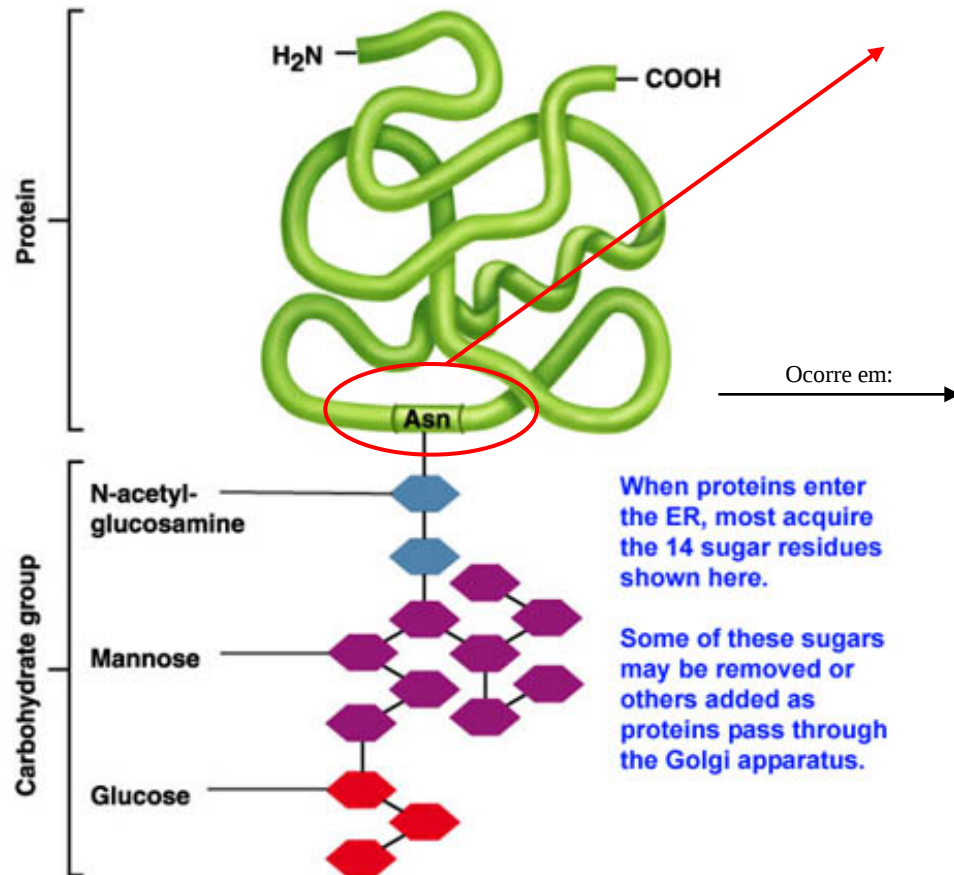
Estrutura Terciária



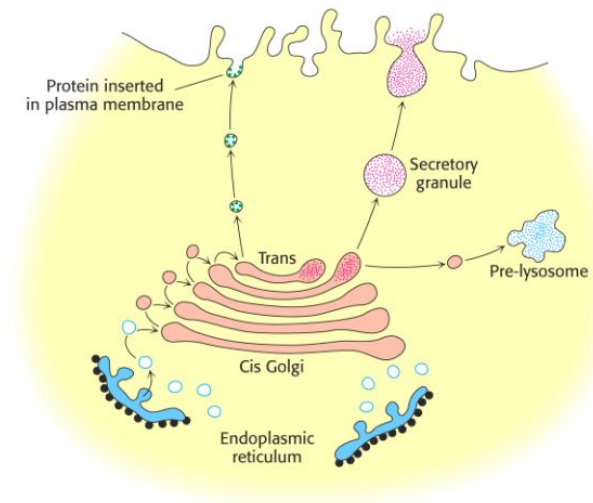
Estrutura Quaternária



Proteínas – Glicosilação



Resíduos de asparagina,
trionina ou serina.



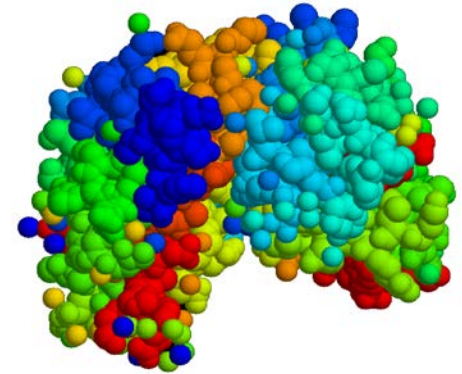
A localização e sequência da
adição de glúcidos depende do
tipo de células e das condições
de cultura.

Bactérias não glicosilam proteínas.

Proteínas - Função

Função biológica:

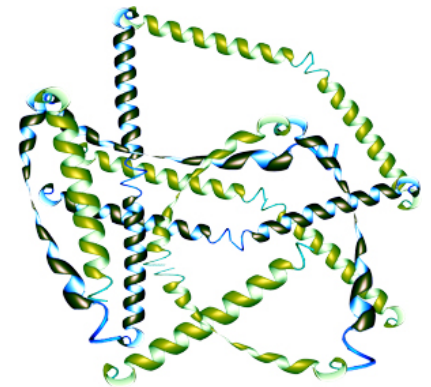
- Estrutural ou mecânica;
- Enzimática (enzimas ou subunidades de enzimas);
- Respostas imunológicas;
- Armazenamento ou transporte de ligandos;
- Nutrição (aminoácidos essenciais e não essenciais).



Participam praticamente em todas as funções celulares, incluindo a regulação das mesmas.

Porque devem ser feitas proteínas???

- Corrigir deficiências na regulação (diabetes);
- Substituir uma proteína inactivada (ADA por SCID);
- Elevar doses para tratamento (GM-CSF);
- Aumentar respostas imunitárias (interferões);
- Dissolver coágulos de sangue (tPA);
- Encontrar células tumorais (e eliminá-las).



Factores a ter em conta na escolha da fonte:

- Características técnicas da proteína desejada;
- Disponibilidade da fonte;
- Nível de produção;
- Segurança;
- Limitações de regulação;
- Questões de patente;
- Percepção do consumidor.

Proteínas Não recombinantes

- Obtidas a partir de microorganismos (GRAS), plantas e animais.

Tecnologia de DNA Recombinante



Desenvolvimento de uma estratégia nova!

Proteínas Recombinantes

Definição

Proteína produzida utilizando Tecnologia de DNA Recombinante



A introdução de uma sequência de DNA de um organismo noutra, permite a produção de uma proteína por outro organismo através da inserção da sequência de DNA que codifica essa proteína.



Proteína Heteróloga

Isolamento e recombinação de um gene ou cDNA de uma espécie e produção do produto do gene num indivíduo da mesma espécie.



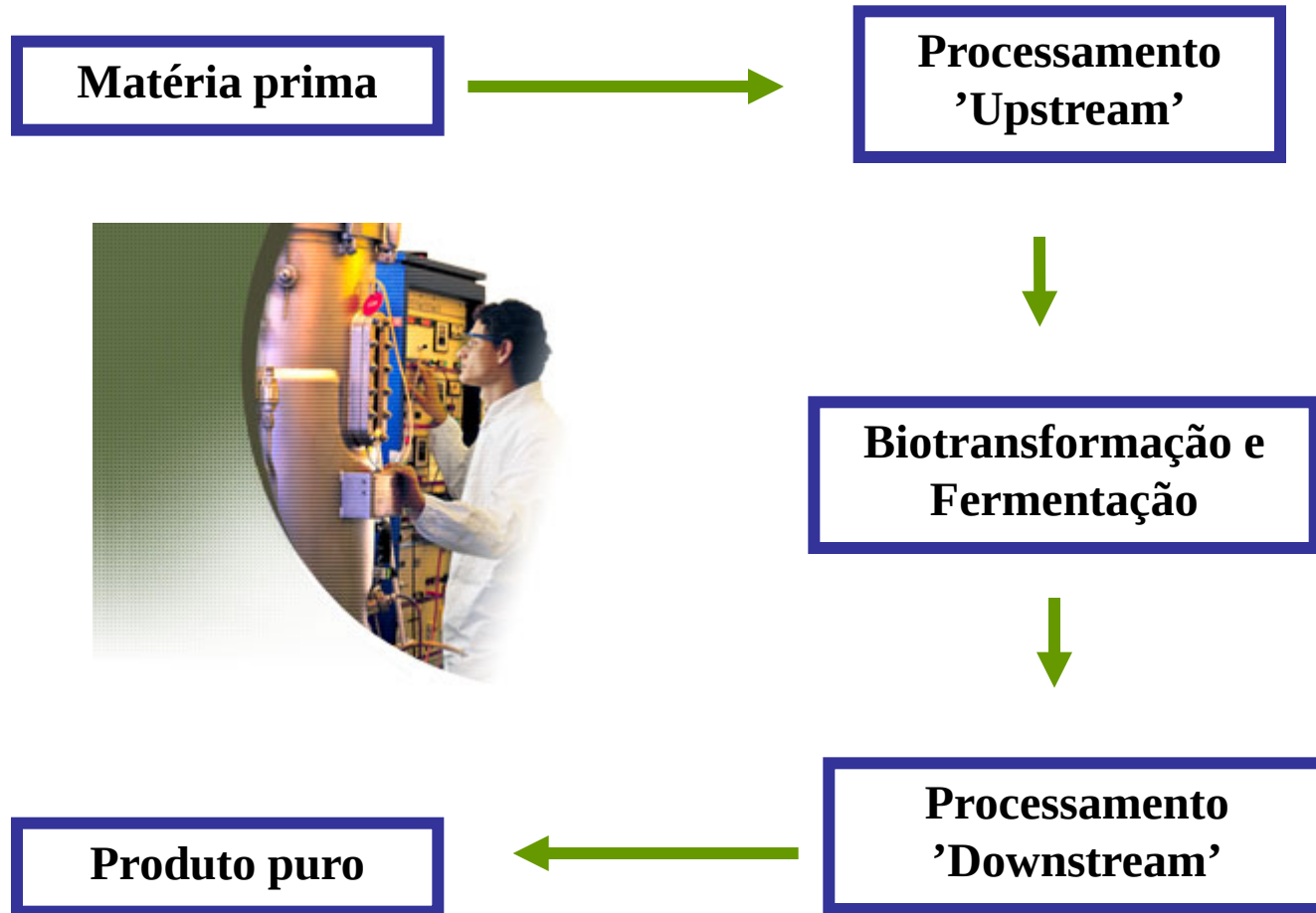
Proteína Homóloga

Proteínas não-recombinantes Vs. Proteínas recombinantes

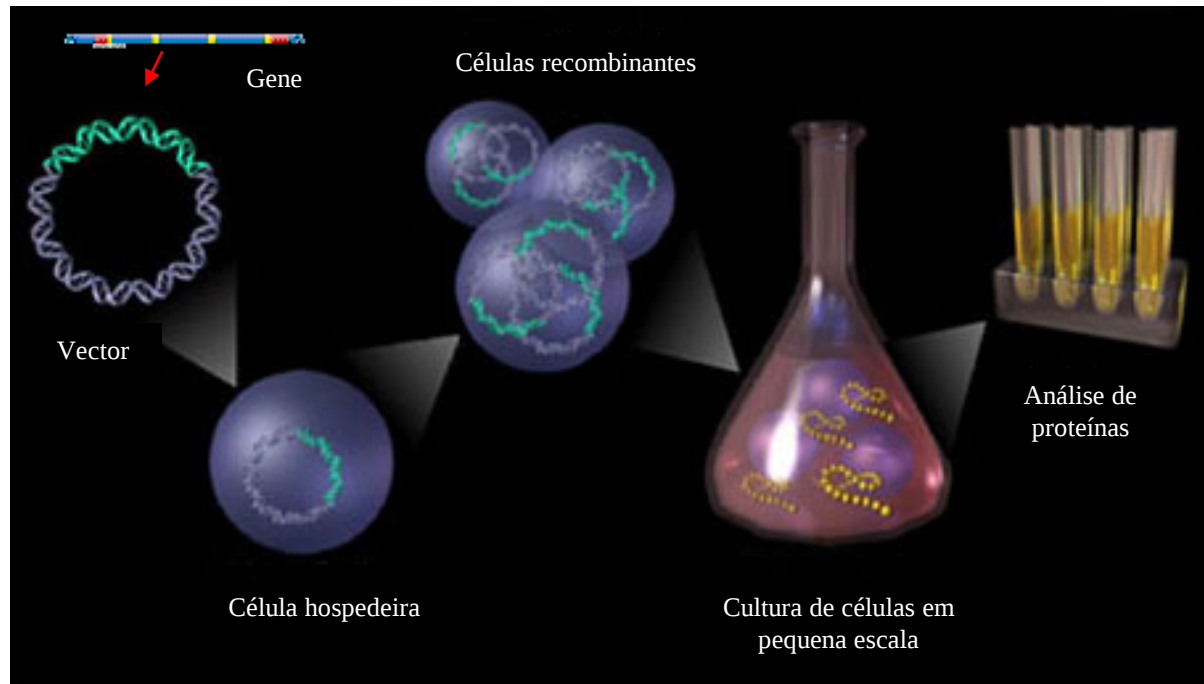
Tecnologia de DNA recombinante permitiu:

- 1) Ultrapassar problemas de disponibilidade reduzida de proteínas pois estas são expressas pelo organismo produtor em concentrações muito baixas;
- 2) Ultrapassar problemas de segurança da fonte, evitando contaminantes tóxicos ou patogénicos no produto final;
- 3) Facilitar a modificação dirigida de uma sequência de aminoácidos na proteína.

Proteínas Recombinantes – Produção

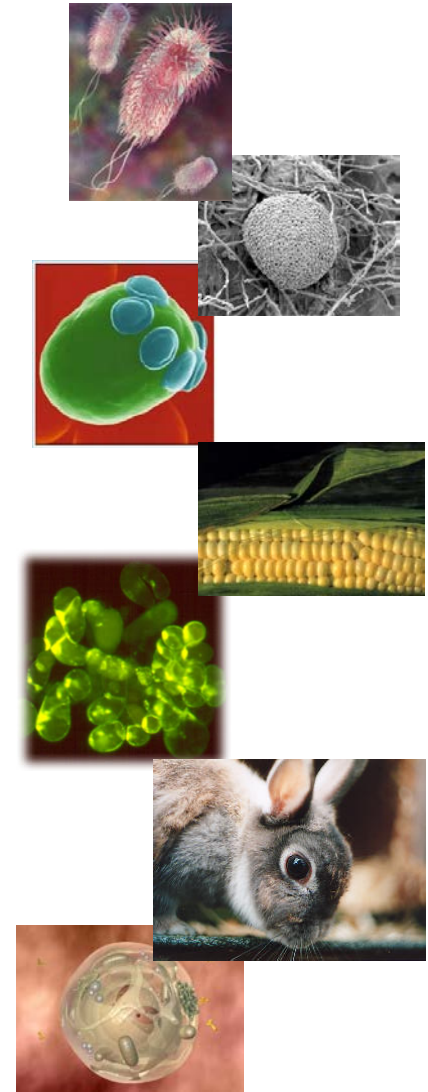
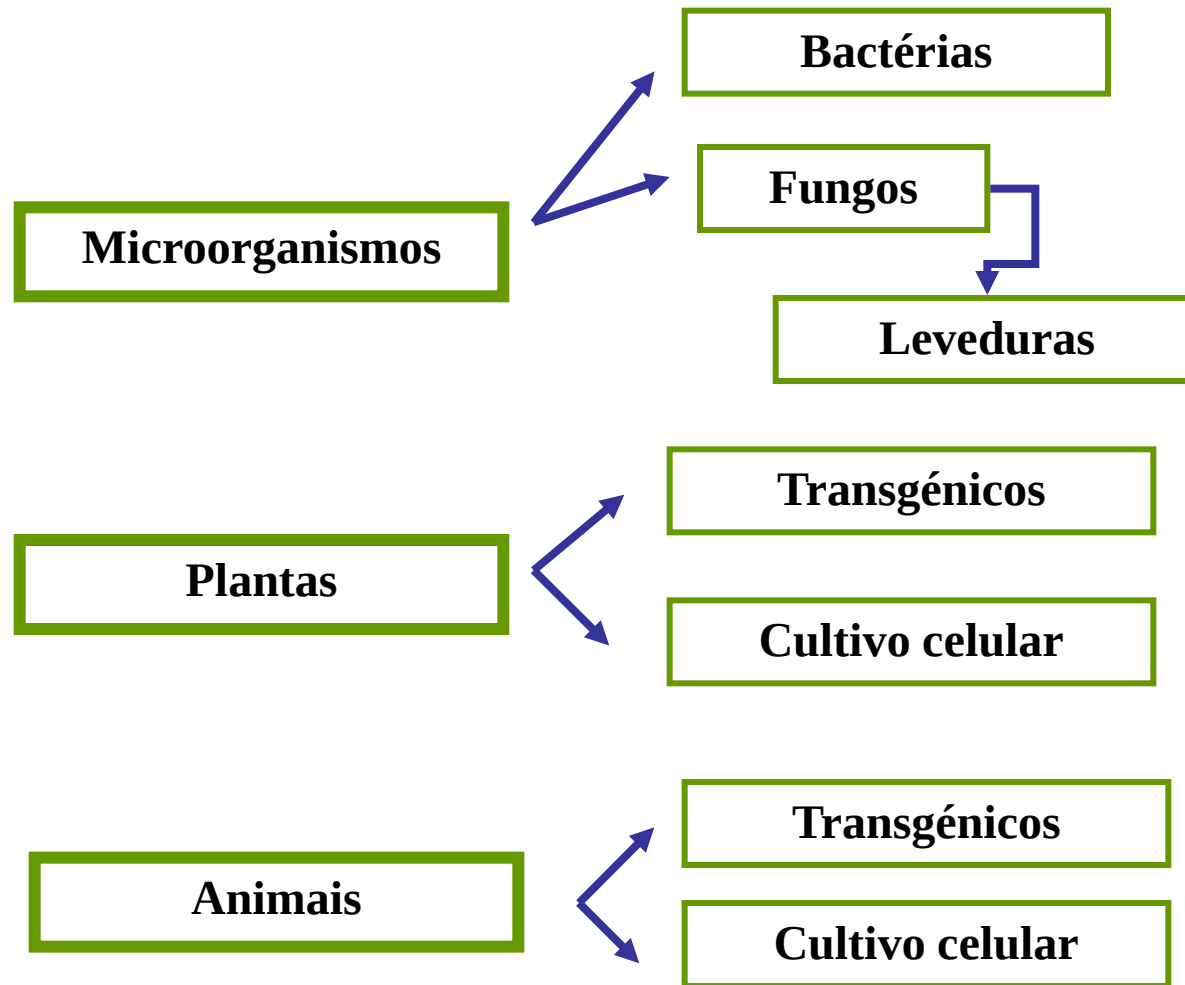


Proteínas Recombinantes – Produção



Proteínas recombinantes: Produção e Aplicações
Biologia Marinha e Pescas, Universidade do Algarve
Faculdade de Ciências do Mar e do Ambiente

Proteínas Recombinantes – Produção



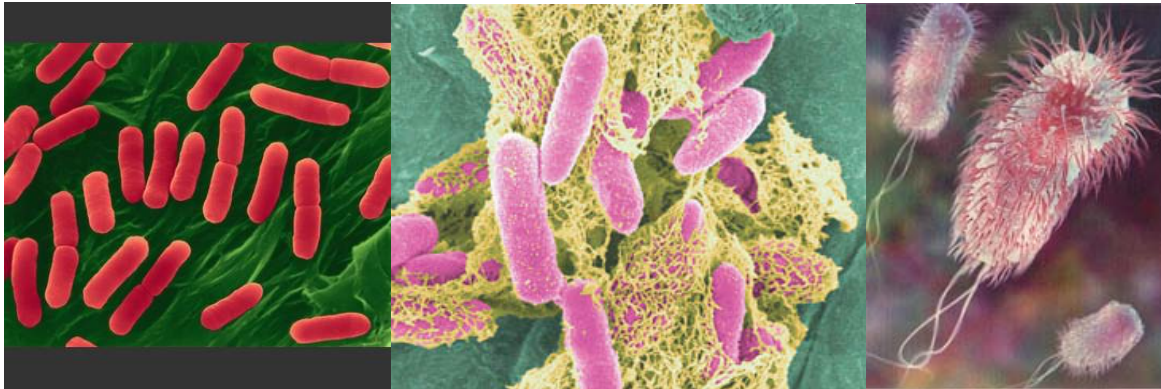
Proteínas recombinantes – Obtidas a partir de microorganismos

Bactérias:

Escherichia coli



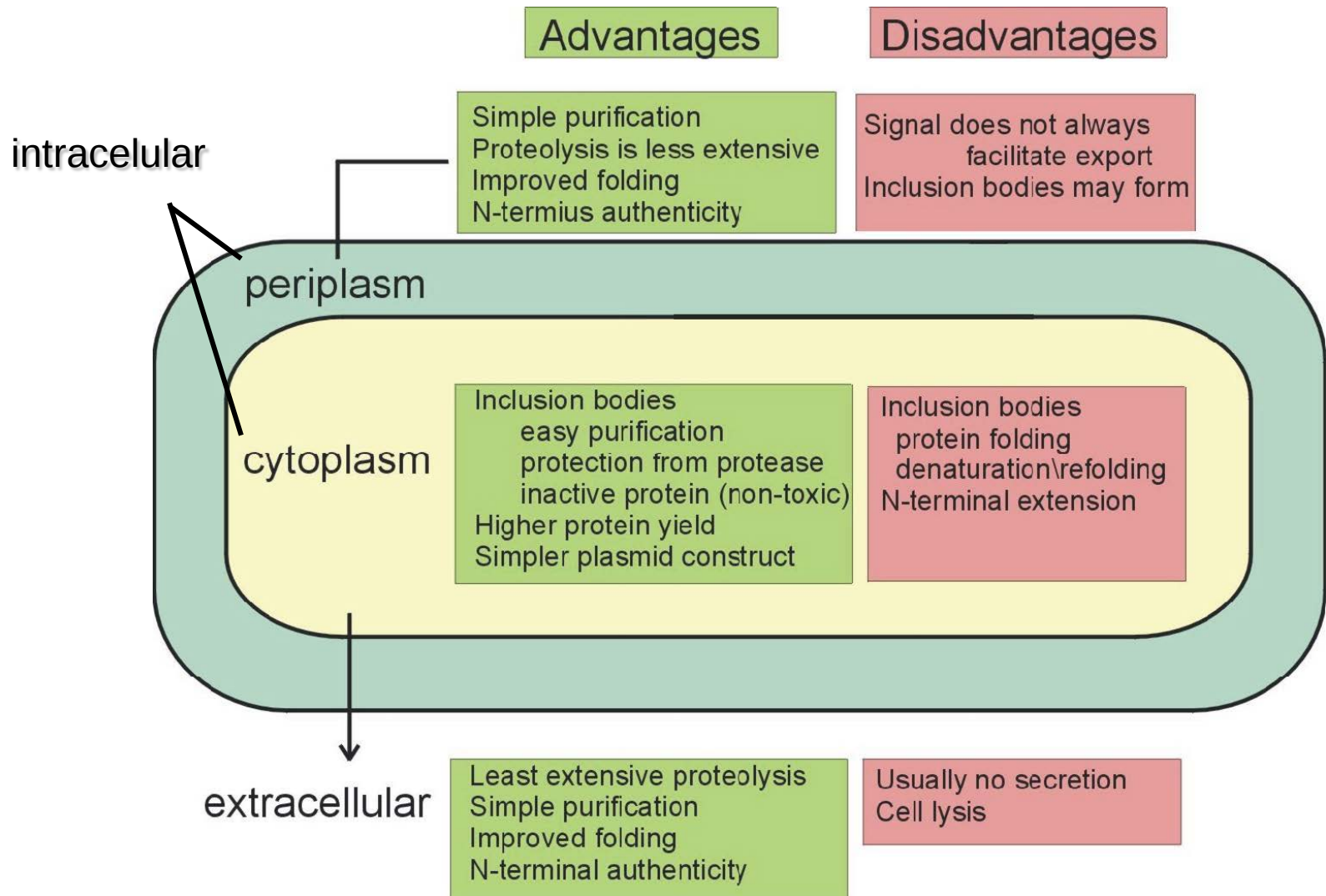
- Insulina;
- Hormona do crescimento bovina e humana;
- Interferões.



Genética bem conhecida, económica... no entanto...

Corpos de inclusão, ausência de modificações pós-traducionais.

Proteínas Recombinantes - Locais de expressão

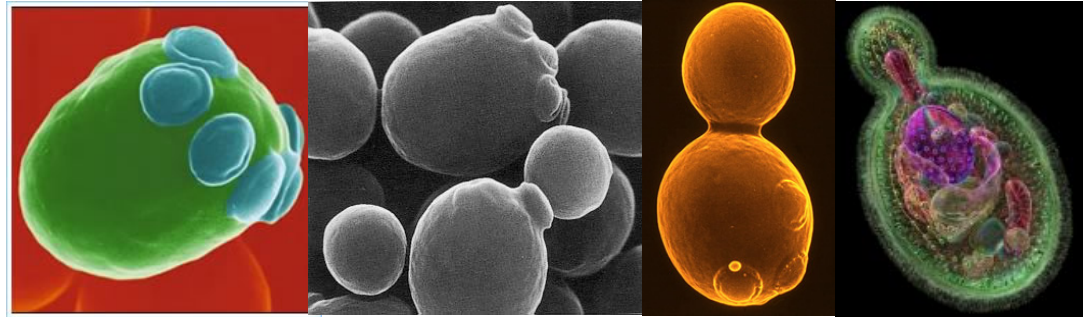


Proteínas Recombinantes – Obtidas a partir de microorganismos

Leveduras (fungos):

Saccharomyces cerevisiae

- Antigene da hepatite B;
- Insulina;
- Anticorpos;
- Interferões;
- Hormona do crescimento humana.



Maioria GRAS, fermentação conhecida, modificações pós-traducionais.

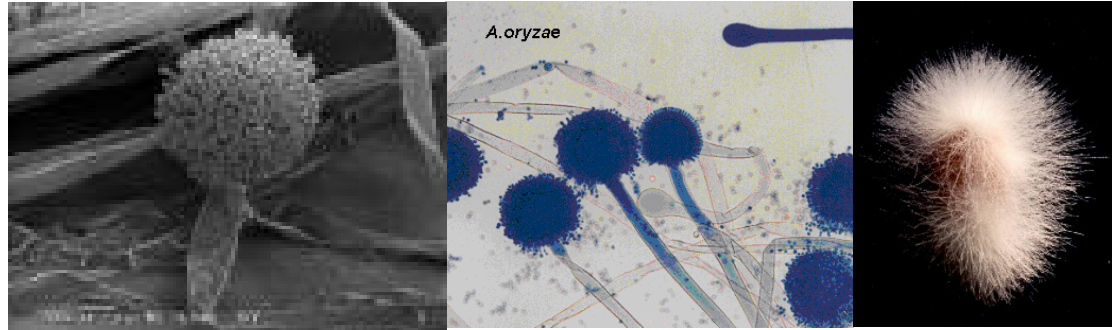
**Expressas em níveis baixos, retenção de proteínas no periplasma,
modificações pós-tradução não são equivalentes a de animais**

Proteínas Recombinantes – Obtidas a partir de microorganismos

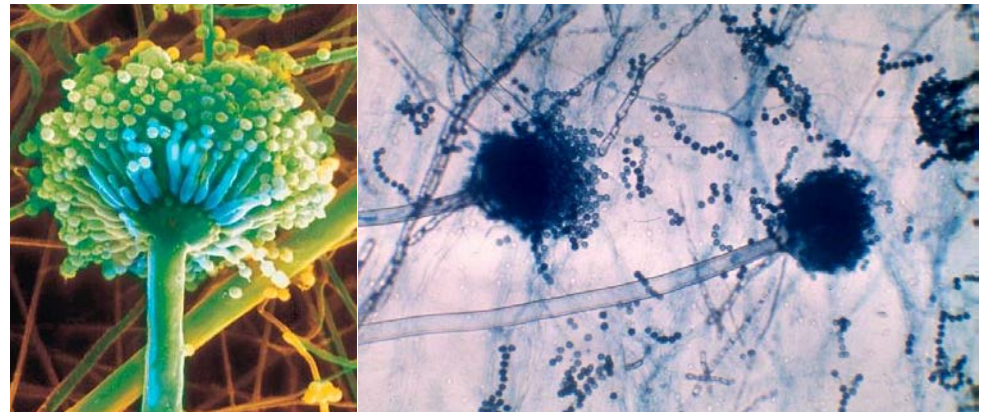
Outros Fungos (filamentosos):

Aspergillus oryzae

Aspergillus niger



- Interferões humanos;
- Lipase de triglicéridos;
- Lactoferrina.



Proteínas Recombinantes – Obtidas a partir de microorganismos

Possuem as mesmas vantagens das leveduras, no entanto algumas conseguem sintetizar e libertar elevadas quantidades de proteína para o meio de cultura

A quantidade de proteína resultante pode variar de algumas centenas de miligramas a mais de uma grama por litro



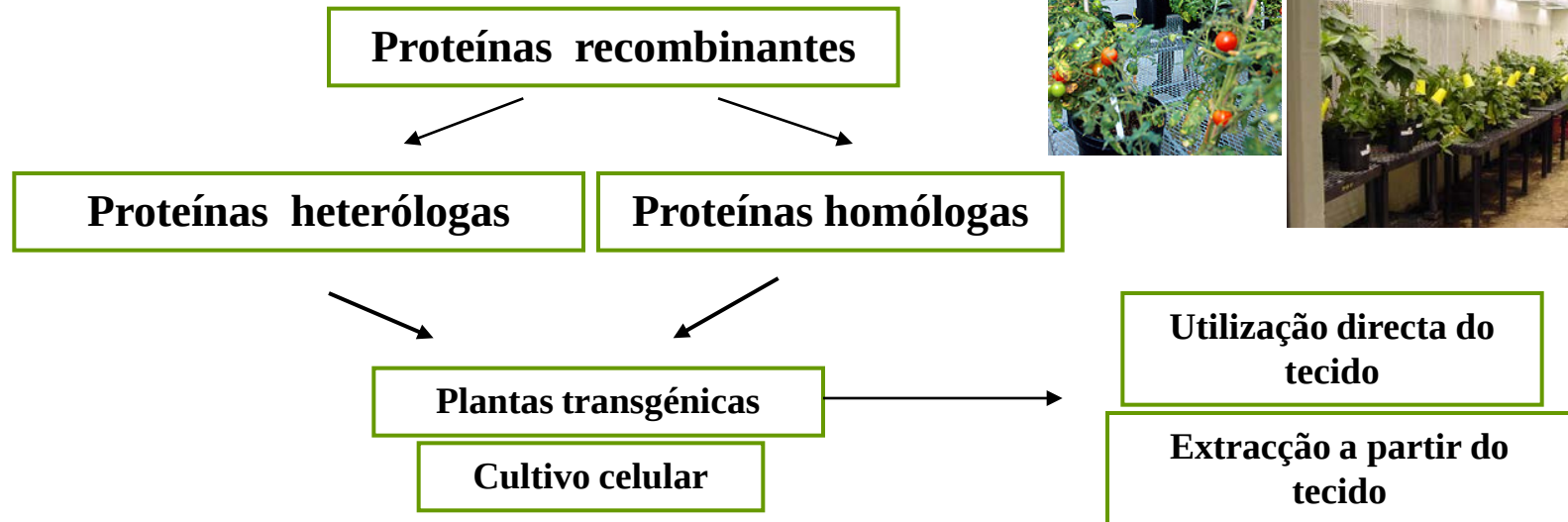
Porquê?



Actividade proteolítica muito elevada!

Proteínas – Obtidas a partir de plantas

Plantas:

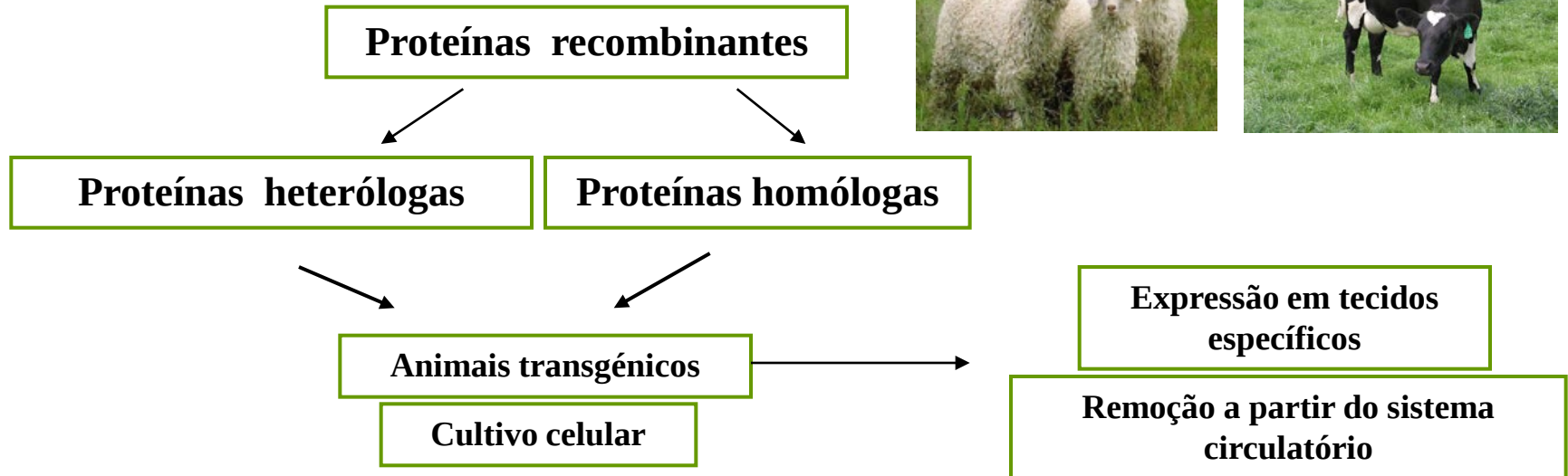


Morfina
Papain (protease-cisteína)
Fitase
Interferão β

- Baixos custos, consumo directo, fácil 'scale-up', cultivo.
- Baixa expressão, falta de experiência, crescimento sazonal.

Proteínas – Obtidas a partir de animais

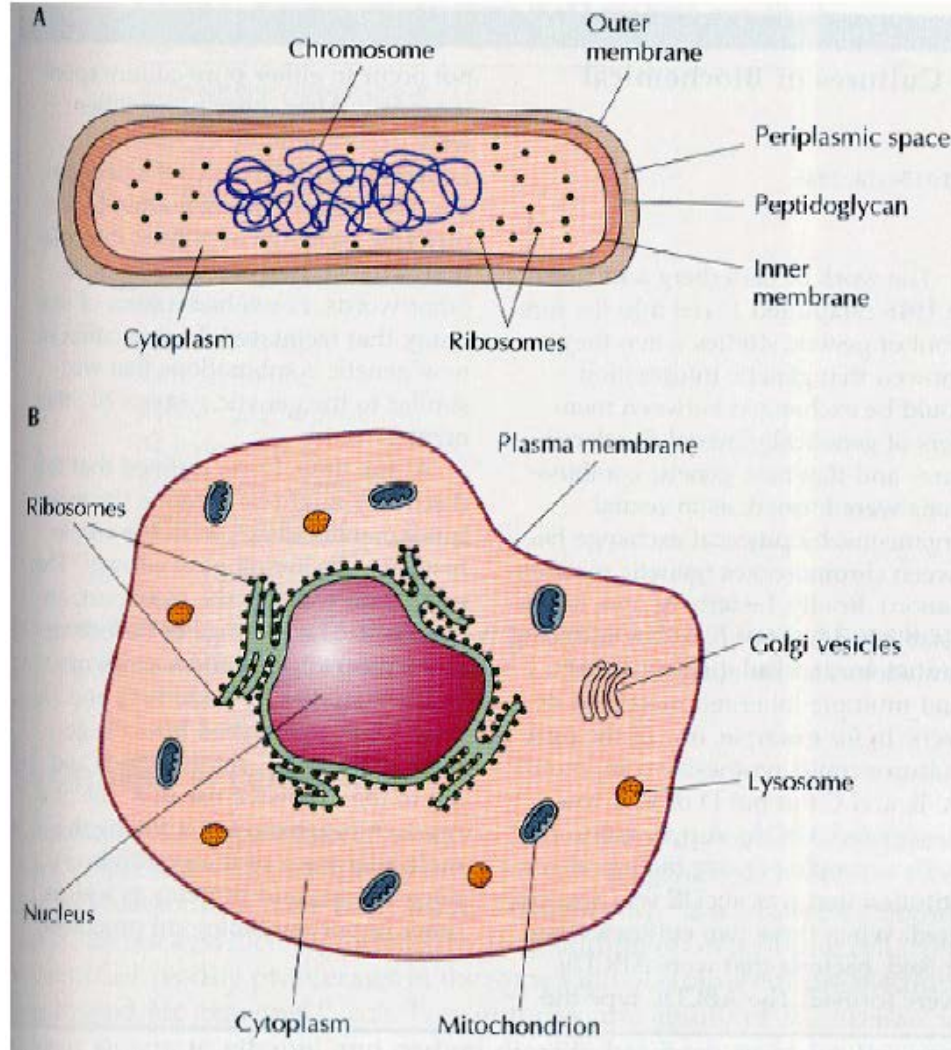
Animais:



- Insulina;
- Anticorpos policlonais;
- Eritropoietina;
- Quimosina;
- FSH;
- Factor VIII;
- Factor IX.



Proteínas Recombinantes – Células animais Vs. Células bacterianas



- Bactérias produzem mais proteína e o seu crescimento é mais fácil e barato;
- Em bactérias todos os passos do processamento das proteínas ocorrem no citoplasma;
- Em bactérias ocorre frequentemente formação de corpos de inclusão;
- Células animais possuem compartimentos e sinais específicos para as proteínas segregadas.

Proteínas Recombinantes

