

PRODUÇÃO DE HORMÔNIO DO CRESCIMENTO HUMANO RECOMBINANTE EM PLANTA DE TABACO TRANSGÊNICO

Adilson Leite (autor principal, responsável e expositor), Edson L. Kemper, Rodrigo M.P. Siloto, Hamza El-Dorry, Paulo Arruda. FAPESP/UNICAMP

O sistema de produção de proteínas de interesse farmacêutico em plantas transgênicas representa uma alternativa realista em relação aos sistemas baseados na expressão em microorganismos, leveduras, fungos e animais. Dentre as vantagens de produção de proteínas heterólogas em plantas destacamos: (1) as plantas como os demais eucariotos apresentam sistemas de processamento pós-traducionais; (2) as proteínas naturais das plantas são consideradas as proteínas de menor custo de produção indicando a possibilidade de que a produção de proteínas heterólogas em plantas resulte em menor custo quando comparado aos demais sistemas de expressão; (3) menor risco à saúde, visto que até o momento não foi descrito nenhum vírus de planta capaz de infectar e provocar doenças no homem; (4) fatores psicológicos favoráveis devido à ausência de associação com microorganismos e à não utilização de animais transgênicos. Na primeira etapa do projeto foram utilizadas plantas de tabaco como modelo devido à facilidade de obtenção de plantas transgênicas. As plantas foram transformadas pelo sistema de agrobactéria através da transferência do plasmídeo pBI131-35SGH. O plasmídeo transferido foi construído através da inserção do gene hGH, controlado pelo promotor do gene que controla a expressão de g-kafirina, no vetor binário pBI131. O promotor utilizado confere expressão especificamente em sementes. Na extremidade 5' da região estrutural do gene hGH acrescentamos um oligonucleotídeo sintético que codifica um peptídeo sinal encontrado normalmente em um gene de proteína de reserva de milho. Este peptídeo sinal tem a capacidade de dirigir o produto de expressão para o retículo endoplasmático, limitando desta forma o acesso à proteases. Na proteína de milho o peptídeo sinal escolhido determina fenilalanina na extremidade amino, resíduo presente também na extremidade amino do hGH natural maduro. Foram regeneradas 66 plantas transformadas que foram analisadas quanto à integração do gene através de "Southern blot" e atividade de GUS. O número de loci envolvidos na integração foi determinada através da análise de cosegregação do gene de resistência à kanamicina. As plantas transformadas apresentaram de 1 a 3 integrações em loci distintos. A produção de hormônio recombinante foi analisada em folhas e sementes das plantas transformadas através de ensaios de ELISA e "western blot", específicos para hGH. O hGH recombinante foi detectado apenas nas sementes em proporções variáveis de 0,039 a 0,16% da proteína total das sementes. Os resultados obtidos na análise de "western blot", demonstram que o hormônio recombinante produzido em tabaco apresenta peso molecular aparente similar ao da proteína recombinante obtida em bactérias. Este resultado preliminar indica o correto processamento na maturação do hGH recombinante produzido em tabaco. Os testes de atividade biológica do hormônio recombinante serão realizados a partir de sementes de plantas selecionadas na 2ª. geração.