

## Material Didáctico Multimédia de Genética e Biotecnologia Vegetal

[www.institutovirtual.pt/edu-agri-biotec](http://www.institutovirtual.pt/edu-agri-biotec)



FUNDAÇÃO CALOUSTE GULBENKIAN

Projecto integrado no "Programa de Apoio a Projectos de Pesquisa no Domínio Educativo 2001", do Serviço de Educação e Bolsas da Fundação Calouste Gulbenkian.

«Conhecem-se milhares de milhões de tipos de moléculas orgânicas. No entanto, só umas cinquenta são utilizadas para as actividades essenciais da vida. Os mesmos padrões são utilizados uma e outra vez para diferentes funções, conservadora e engenhosamente. E no próprio fulcro da vida na Terra - as proteínas, que controlam a química celular, e os ácidos nucleicos, que transportam as instruções de hereditariedade - encontramos essas moléculas, essencialmente idênticas em todas as plantas e animais. Um carvalho e eu somos feitos da mesma matéria. (...) A célula viva é um território tão complexo e fascinante como o reino das estrelas e das galáxias.» Carl Sagan (1980)

### Ficha temática n.º4 Novos Produtos e Substâncias

Sabemos que as plantas nos são úteis na alimentação, no vestuário, na cosmética e em tantas outras coisas. Não exageramos se dissermos que são 'autênticas fábricas': com energia solar e a partir de água, dióxido de carbono e iões inorgânicos, as enzimas vegetais manipulam inúmeros processos de síntese orgânica que originam um vasto conjunto de moléculas naturais. Muitas estão bem caracterizadas e são conhecidas, outras serão ainda desconhecidas...

Umam são-nos úteis, outras nem por isso. À sua enorme variedade junta-se uma infinidade de maneiras ou modos de as usarmos. Esta variedade pode ser estudada em termos geográficos, económicos, históricos, etc. Alguns registos históricos são gravuras pintadas em cavernas ou grutas que podemos visitar e outros são manuscritos muito antigos, cujas reproduções podemos consultar.

#### I. Área dos biofármacos

As plantas têm sido usadas como fonte de produtos farmacêuticos desde tempos imemoriais. O eucalipto, por exemplo, é um composto orgânico líquido extraído do eucalipto (ver figura 1).

Pela sua originalidade algumas lendas sobre este aspecto são interessantes. Para uma mesma planta e um mesmo uso que dela se faz, há episódios passados em cenários diferentes mas com a mesma mensagem. Vejamos, para o caso de um produto existente na casca de uma árvore, estes dois cenários:

os índios dos Andes (América do Sul) terão encontrado alívio para a febre ao ingerir água em charcos nos quais cascas de certas árvores existiam tomando-a amarga. Essas populações terão feito um uso terapêutico dessas águas, cujas propriedades passaram a ser do conhecimento de missionários (século XVII) que depois difundiram essa informação na Europa.

embora já conhecida dos índios, o primeiro registo do produto ocorreu em 1638, quando curou a Condessa de Cinchon, mulher do Vice-Rei do Perú, da **malária** após todos os outros remédios terem falhado.

Em 1820, dois químicos franceses conseguiam, a partir da casca dessa árvore, de nome **Cinchona**, extrair uma substância química -quinina ou quinino- de utilidade no tratamento da malária, nos casos de febre e que tem valor tónico e antiséptico.

Os produtos que as plantas nos fornecem com propriedades medicinais podem nelas situar-se não só na casca, mas em qualquer tipo de órgão ou estrutura: folhas, raízes, frutos, sementes, pólen, etc. Para cada caso de 'remédio natural' que as plantas nos fornece, diferentes modos existem para se proceder: à sua extracção e aos seus processamento, **armazenamento e distribuição** (figuras 2 e 3). As necessidades crescentes de alguns destes produtos levaram nalguns casos, ao cultivo das plantas medicinais em larga- escala em meio natural e, noutros casos ao 'cultivo' de células, tecidos ou órgãos destas plantas medicinais em meio laboratorial (técnicas de cultura *in vitro*, biorreactores).

Esta 'produção laboratorial' de várias substâncias foi evoluindo, década a década:

em 1956, foi registado um processo de produção de substâncias a partir da cultura de tecidos de *Phaseolus*.

em 1967, os níveis de produção de metabolitos secundários em culturas de células de *Ammi visnaga* consegue igualar os níveis obtidos em plantas.

em 1977, ocorre o cultivo em biorreactores de 20.000 Litros de células de tabaco.

Por vezes, a extracção e purificação de compostos existentes nas plantas (como por ex.: de proteínas ou de **óleos essenciais**) a partir tecidos vegetais é um processo trabalhoso e caro...Para que ocorra um 'fabrico' economicamente viável destes compostos em larga- escala várias metodologias têm vindo a ser afinadas ao longo de vários anos.

As modernas técnicas de manipulação genética são interessantes para a produção nas plantas de **novos compostos** (por exemplo de **novas proteínas**) que, em termos práticos:

podem eles próprios ter propriedades farmacêuticas ou possuir actividade enzimática que altere algumas vias metabólicas da planta conducentes à síntese de novos compostos com interesse farmacêutico.

As proteínas recombinantes têm sido produzidas em folhas, frutos, raízes, tubérculos, e sementes de muitas plantas geneticamente modificadas para funcionarem como 'plantas-fábrica'.

#### Notas



Figura 1- Folhas de eucalipto (*Eucalyptus*). O eucalipto é oriundo da Austrália e Tasmânia e é bastante cultivado em Portugal.



Figura 2- Frascos de medicamentos (de um ponto de vista prático 'medicamento' é usado como sinónimo dos termos: fármaco e remédio)

**Malária**-doença que se transmite por picada de um certo tipo de mosquito (insecto *Anopheles*). A doença é de enorme gravidade em países africanos e asiáticos. Os cientistas já decifram e analisaram o código genético de parasitas da malária (*Plasmodium*), ver em: [www.tigr.org](http://www.tigr.org)

**Cinchona**- várias espécies do género *Cinchona* possuem uma casca com propriedades medicinais. A 1ª a ser usada foi a *C. Calisaya*, tendo depois sido outras exploradas comercialmente (*C. Officinalis*, por ex.). Estas árvores são originárias dos Andes (América do Sul) localizando-se as plantações comerciais na Índia e Java.



Figura 3- Aspecto de farmácia antiga. (do grego «pharmakon»- remédio, veneno)

Os **óleos essenciais** encontram-se entre os compostos mais importantes produzidos pelas plantas. Desde a antiguidade foram usados como fármacos, no fabrico de cosméticos e perfumes, e nas indústrias agro-alimentares como aromatizantes e agentes antimicrobianos e anti-oxidantes. (ex. de óleo de alto valor comercial: óleo de jasmim).

**Novas proteínas** ou **Proteínas Recombinantes**, (também designadas heterólogas) são de modo simples, e como o nome indica proteínas que diferem das proteínas que existem 'naturalmente' sem terem sido obtidas por engenharia de proteínas. Os recentes avanços na transgénese vegetal (e animal) permitem a bioprodução deste tipo de proteínas.

Estas plantas transgénicas têm particularidades interessantes para uma bioprodução, economicamente viável, de proteínas com **actividade biológica** e úteis em termos farmacêuticos. De facto, a purificação delas a partir de material vegetal apresenta menor risco de contaminação com vírus patogénicos que podiam existir num sistema baseado em material animal (ex.: Ovelha, porco ou vaca transgénica).

Nesta área, novas técnicas surgem a um ritmo acelerado: uma recente 'inovação' para a bioprodução de proteínas recombinantes é o sistema de **Agro-infiltração** (em inglês *Agro-infiltration*), que demonstra que as 'plantas-fábrica' podem então ser ou não plantas transgénicas.

As dificuldades que surgem nalguns casos (níveis de produção de proteína recombinante irregulares e baixos) não desanimam os investigadores, que prosseguem com 'afinações'. As plantas parecem ser os únicos sistemas capazes de uma produção eficaz de certas proteínas humanas tais como **reguladores do crescimento e inibidores do ciclo celular**, podendo destronar os sistemas baseados em culturas de células animais e em animais transgénicos.

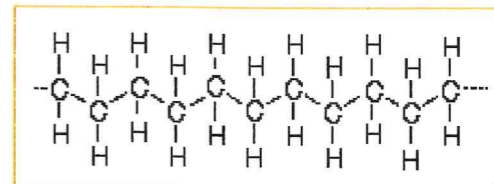
Uma inovação recente em plantas são as '**vacinas comestíveis**' (em inglês *edible vaccines*): as plantas são modificadas geneticamente e nelas passam a ser expressas as moléculas capazes de estimular a resposta do sistema imunitário (figuras 4a e 4b). Qualquer que seja o modo de administração de uma vacina o objectivo é sempre o mesmo: activar o sistema imunitário para que ele 'destrua' os agentes patogénicos antes que eles se multipliquem rapidamente.

#### Resumindo...e concluindo:

Tornou-se «rotina» para muitas plantas algo de novo: nelas são expressos genes com origens diversas, vindos de: bactérias, de outras plantas, de mamíferos (entre os quais da nossa própria espécie- *Homo sapiens*)! O objectivo é, de modo simples: a esses genes correspondem enzimas e, a essas **enzimas** correspondem novos **produtos**. É a 'engenharia metabólica de plantas' que origina **novos produtos** (em inglês, **foreign products**) que incluem:  
peptídeos bioactivos: neuropeptídeo leu-encefalina produzido na planta *Arabidopsis*;  
proteínas humanas: albumina sérica Humana (em inglês: *Human serum albumin*)  
enzimas: a enzima 'Bacillus licheniformis-alfa-amilase' expressa na planta do tabaco (enzima de utilidade nas indústrias de transformação de amido, e também de fabrico de cerveja, vinhos, sumos e de detergentes)  
vacinas: caso de desenvolvimento de vacina contra a Hepatite B com ensaios em plantas de tabaco geneticamente modificadas para esse efeito.  
anticorpos: ensaios para 'bioprodução' de diversos anticorpos (com vasta gama de aplicações) inicialmente em tomateiro, e depois em batateira, entre outras plantas.  
produtos industriais: ensaio com plantas de *Arabidopsis* - caso de PHB-biopolímero, que vamos explorar...

#### II. Área dos biopolímeros

Refere Flavin, em 1997 que: «*Mesmo na era da informação ainda vivemos num mundo material, e restaurar o nosso equilíbrio com a natureza significa encontrar novos meios de fornecer milhões de toneladas de metais, madeira, cimento e plástico dos quais dependemos*». No 'mundo de materiais' há muitos **polímeros** (esquema 1, figura 5). Uns existem na natureza, são biopolímeros: a seda, a borracha natural, e o amido. Outros são sintéticos: nylon, poliéster. A partir de 1950, com os progressos da química, os derivados do petróleo originaram um grande número de polímeros sintéticos. Por volta de 1970 foram desenvolvidos materiais elaborados a partir de polímeros naturais, ou seja biomateriais a partir de biopolímeros.



Esquema 1 - Representação esquemática de um polímero simples formado por Carbono (C) e Hidrogénio (H).

#### Notas

Para que as proteínas possam desempenhar a sua **actividade biológica**, dão-se na sua bioprodução nas 'plantas-fábrica', várias reacções (ex.: de acetilação, de fosforilação e de glicosilação, entre outras modificações necessárias).

**Agro-infiltração**- técnica em que, de modo simples, nas folhas de uma planta não-transgénica se faz, com ajuda de vácuo, a infiltração de *Agrobacterium recombinante*. Tem vantagens em relação a outros métodos e permite obter níveis similares de produção de proteína recombinante.

Entre várias '**vacinas comestíveis**' temos bananas, batatas e tomates. Um cientista empenhado neste ramo de investigação é Charles Arntzen.



Figura 4a - Uma das Plantas modelo estudada na área dos 'Alimentos Vacina' é a banana.



Figura 4b - Os programas de vacinação oral poderão num futuro próximo incluir alimentos como veículo de administração ('alimentos vacinas') que irão substituir os actuais.

**Plástico** é um material que pode ter um ou mais polímeros na sua composição. A grande maioria dos plásticos são feitos a partir de apenas alguns polímeros: polietileno, polipropileno, poliestireno e polivinilclorato

**Polímero** é uma palavra composta por dois termos: 'poly' que significa muitas e 'mer' que significa partes. Um polímero é assim constituído de muitas partes. Essas partes são conhecidas por monómeros ou unidades monoméricas. Os arranjos atómicos em proteínas, minerais e plásticos podem ser vistos em <http://www.molecularuniverse.com>

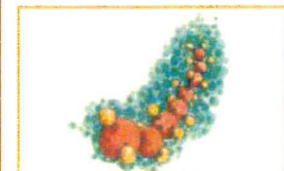


Figura 5 - Representação de parte de um polímero.

Como sabes, na natureza tudo se pode esgotar, basta que a procura exceda a oferta disponível num dado momento. Estas **crises de recursos**, mais acentuadas actualmente levaram à reciclagem de materiais (figuras 6a e 6b), e também sucediam antigamente. No ano de 1863, devido à falta de marfim para o fabrico de bolas de bilhar terá surgido a um fabricante americano a ideia de dar um prémio a quem encontrasse um material capaz de substituir o marfim (que como sabes é de origem animal - elefantes). Ao fim de uma série de experiências e peripécias John Hyatt e um irmão acabaram por obter, em 1870, um material plástico artificial a que chamaram celulóide - usado ainda hoje em bolas de ping-pong - (figura 7).

#### Plásticos derivados de plantas vs. Plásticos derivados de petroquímicos

Henry Ford, célebre patrão da **Ford**, terá tentado encontrar aplicações não-alimentares úteis para os materiais excedentes da agricultura ao utilizar materiais de soja para manufactura de peças de automóveis. Algumas manchetes de jornais da época referiam: « Ford, em parte salada, em parte carro! ». Um Ford típico de 1936 continha assim algum 'plástico de soja' em diversas peças.

A ideia não era nova: muitos dos plásticos eram produzidos a partir de produtos agrícolas. Os **biopolímeros de origem agrícola** têm diversas aplicações. Os produtos petroquímicos têm sido preferidos ao longo dos anos dado que têm propriedades benéficas (força e flexibilidade) a custos mais baixos. Mas como 'o dinheiro não é tudo e a poluição também tem o seu preço', a investigação sobre o desenvolvimento de plásticos a partir de recursos renováveis foi continuando.

Actualmente estão a ser investigados métodos de obtenção de **polímeros em plantas geneticamente modificadas**. Esta metodologia constitui uma alternativa à obtenção de polímeros com origem petroquímica. Os estudos prosseguem para afinar aspectos importantes para que, em termos ecológicos e económicos, esta alternativa seja viável.

Na natureza, a bactéria *Ralstonia eutropha* (ex *Alcaligenes eutrophus*) produz um polímero designado **PHB** « Poly-D-(-)-3-hydroxybutyrate », que é biodegradável. As vias metabólicas da sua produção, bem como os correspondentes genes já foram identificados. Estes genes foram depois usados em protocolos experimentais com uma outra bactéria - *E. coli* - e depois com a planta *Arabidopsis thaliana*. Esta **planta transgénica** foi capaz de produzir o PHB, embora se tenha verificado ser necessário 'afinar' o processo quanto aos níveis da sua produção e quanto à sua localização. Os estudos prosseguiram em outras plantas: milho (por ex.). O biopol. é actualmente um destes 'bioplásticos' no mercado (é do tipo 'polyhydroxyalkanoate' ou PHA, e as suas propriedades são semelhantes às do polipropileno ou polietileno vulgares).

A possibilidade de expressão de polímeros para a produção de **plásticos** em plantas geneticamente modificadas para esse efeito, oferece mais uma alternativa à sua produção tradicional baseada no petróleo ou no carvão.

Cada nova alternativa deve ser comparada com as anteriores segundo os mesmos parâmetros. No fundo de que pode servir um processo que permite obter um plástico biodegradável se essa via consumir muito mais energia, acabando por causar também poluição? E talvez até mais poluição?

Que desenvolvimentos nesta área serão bem sucedidos?

#### Esperemos... Por enquanto sabemos que:

Os impactos ambientais dos processos alternativos ditarão a sua performance: ora superior, ora inferior. Os níveis de produção dos biopolímeros por planta e a inexistência nessas plantas de características indesejáveis, ditarão o seu futuro comercial.



Figura 6a - A reciclagem permite 'poupar' recursos.



Figura 6b - Aspecto de granulados obtidos por reciclagem de diversos tipos de plástico.

"Carro de Plástico" de Ford em: [www.ilifeinplastic.com/html/body\\_info/bioplastiford.htm](http://www.ilifeinplastic.com/html/body_info/bioplastiford.htm)

**Biopolímeros de origem agrícola.** Podem ser de diferentes tipos e ter diversas aplicações (embalagem, produtos adesivos, produtos de revestimento e pintura, produtos têxteis, produtos usados em cirurgia médica, etc.). Dados de 1999 indicavam um valor de produção no mercado mundial dos biopolímeros de origem agrícola ('agromateriais') de ca. de 30 000 toneladas/ano comparativamente a um valor de 100 milhões de toneladas para os materiais de origem petroquímica.

**PHB - 'Poly-D-(-)-3-hydroxybutyrate' - segregados da síntese.** O PHB é um poliéster que, na natureza, ocorre e se acumula na bactéria *R. eutropha* (ex *A. eutrophus*). Na sua biossíntese há 3 tarefas realizadas por 3 enzimas ('trio das enzimas' do PHB), cujos nomes em siglas são: phbA - phbB e phbC. Depois, seguiu-se o trilha, que num 'mapa de descobertas' indicaria: tendo os genes; terás as enzimas; e depois, terás (se tudo correr bem) os produtos!! (biopolímero, neste caso). Então, os genes que codificam estas 3 enzimas foram identificados, inseridos noutra bactéria a *Escherichia coli* (*E. coli*): que produziu o PHB!!

**Síntese em plantas transgénicas de PHB.** Como a enzima phbA existe no citoplasma das plantas superiores, para ter o 'trio das enzimas' completo os genes responsáveis pelas outras duas phbB e phbC foram introduzidos (como já sabes, em 'cassetes génicas' com o promotor CaMV35S) em *Arabidopsis thaliana* - a 'planta modelo': que produziu o PHB!! Mas, com algumas peripécias e efeitos inesperados: estas plantas trans-génicas em relação às não-transgénicas tinham: menor tamanho, menor nº de sementes, entre outros aspectos... A 'esperteza' da natureza desafia os cientistas: há que 'afinar', para alcançar!



Figura 7 - Bolas fabricadas com celulóide.

#### Fontes consultadas

- Collona, P.(1999). Les biomatériaux détronneront-ils les plastiques? *Biofutur* 193: 16-18.
- Figueiredo et al. (2001). Raízes transgénicas em engenharia metabólica de plantas: produção de voláteis. *Melhoramento* 37: 271-280.
- Flavin, C. (1997). Culture of Permanence. *Time* (Special Issue: Our precious planet): 82-3.
- Gil, V.M.S. (1996). 33 Casos de Acaso em Ciência, 63 pp. Ed. Gradiva Júnior, Lisboa.
- Gleba, D. et al. (1999). Use of plant roots for phytoremediation and molecular farming. *Proc.Natl. Acad. Sci. USA* 96 (11): 5973-77
- Hill, A.F. (1937). *Economic Botany*. Ed McGraw-Hill Co., NY & London.
- Monnier, A-L.(1999). Les plantes vaccins sont-elles pour demain ? *Biofutur* 194: 88-9.
- Nieddu, M. (1999). Biopolymères: une dynamique économique étouffée ? *Biofutur* 193: 22-5.
- Pueyo, J.J., Hiatt, A. (1998). Production of foreign compounds in transgenic plants, pp 251-261, in *Agricultural Biotechnology*, Ed. A. Altman, Marcel Dekker, Inc., N.Y.
- Sack, M. et al. (2002). Rapid large-scale production of recombinant antibodies in agro-infiltrated tobacco leaves. *Bti BioTech International* 14(4): 12-15.
- Sagan, C. (1980). *Cosmos*, 365 pp. (Trad. 2001) Ed. Gradiva, Lisboa.
- Smith, M.A.L. (1995). Large scale production of secondary metabolites, in *Current Issues in Plant Molecular and Cellular Biology*, 669-74, eds Terzi, M. et al , Kluwer Academic Publ.

#### Imagens:

[www.freefoto.com](http://www.freefoto.com)  
[www.webshots.com](http://www.webshots.com)  
[www.ars.usda.org](http://www.ars.usda.org)  
[www.molecularuniverse.com](http://www.molecularuniverse.com)  
[www.who.prg](http://www.who.prg)

#### Escolas Participantes

Escola Profissional de Desenvolvimento Rural de Serpa  
 Escola Profissional do Alto Minho Interior  
 Escola Profissional Agrícola do Rodo Régua  
 Escola de Viticultura e Enologia da Bairrada Anadia  
 Escola Profissional Agrícola de Torres Vedras Runa



Ministério da  
 Agricultura,  
 do Desenvolvimento  
 Rural e das Pescas



instituto de soldadura  
 e qualidade

#### Conteúdo Científico

Dr.ª Maria Alexandra Viegas Abreu Lima - Departamento de Protecção de Plantas  
 EAN-INIA

#### Concepção Gráfica

Daniela Parchow Figueiredo - Centro de Edição - ISQ