
PROTEÍNAS RECOMBINANTES¹

Las herramientas de la biotecnología

Durante la segunda mitad del siglo XX se lograron importantes avances en la biología, que fueron esenciales para el desarrollo de la biotecnología. Uno de los más importantes fue la determinación de la estructura de doble hélice del ADN. Este hecho, que les valió a los investigadores James Watson y Francis Crick el premio Nobel de medicina en 1962, permitió comprender cómo el ADN determina los caracteres de un individuo y cómo se transmiten de una generación a la siguiente. A partir de este hecho se pudo conocer que todos los organismos, desde los más simples hasta los más complejos, tienen un código genético común. Esto significa que el ADN de un organismo está “escrito” en un código que puede ser interpretado y traducido por las células de otros organismos.

Se conoció que la información genética en todas las células se traduce a proteínas, componentes fundamentales que desempeñan una gran diversidad de funciones. Entre ellas las enzimas, que son proteínas que catalizan (aceleran) reacciones químicas en los seres vivos.

A comienzos de los años 70 se descubrieron diversas enzimas en

bacterias y virus, que fueron de gran ayuda para la biotecnología. Entre ellas:

- **Endonucleasas de restricción:** enzimas bacterianas que reconocen secuencias específicas del ADN, y cortan la cadena cada vez que esta secuencia aparece. Existen endonucleasas de restricción que cortan el ADN en diferentes puntos
- **ADN ligasas:** enzimas que “pegan” fragmentos de ADN.
- **Transcriptasas inversas:** enzimas virales que puede invertir la dirección normal de la transferencia de información. Normalmente, la información genética contenida en el ADN se transcribe a una molécula de ARN (ácido ribonucleico) y luego se traduce a una proteína. La transcriptasa inversa sintetiza ADN a partir del ARN.

En ingeniería genética o tecnología del ADN recombinante, se utilizan estas enzimas para cortar y aislar un gen determinado -que tiene información para fabricar una proteína particular- e introducirlo en las células de un organismo distinto del inicial. En consecuencia, este organismo tendrá ADN recombinante a partir del cual fabricará una nueva proteína. A la proteína producida a partir de ADN recombinante se la denomina proteína recombinante .

¹http://www.porquebiotecnologia.com.ar/educacion/cuaderno/ec_49.asp?cuaderno=49

Producción de proteínas recombinantes humanas

La recombinación de genes humanos en el ADN de bacterias es una de las posibilidades que ofrece la biotecnología, y que posibilita obtener proteínas humanas con fines terapéuticos. Por ejemplo, insulina humana obtenida a partir de la bacteria *Escherichia coli*. Esta técnica es de gran valor porque las bacterias se reproducen rápidamente y pueden duplicar su número cada 20 minutos. De esta forma se pueden obtener en poco tiempo muchas copias del gen humano inserto en el ADN bacteriano, y producir grandes cantidades de proteínas recombinantes.

A escala industrial, la producción de proteínas recombinantes involucra las siguientes etapas:

- **Fermentación:** las bacterias son cultivadas en tanques sellados (fermentadores) que contienen un medio de cultivo nutritivo.
- **Extracción:** las células son centrifugadas para recuperar las proteínas de su interior.
- **Purificación:** se separa la proteína recombinante de las otras proteínas bacterianas.
- **Formulación:** la proteína recombinante es modificada para conseguir una forma estable y estéril que puede administrarse terapéuticamente.

Cada una de las fases de la elaboración implica un manejo muy cuidadoso de los materiales y un estricto control de calidad para optimizar la extracción, la pureza, la actividad y la estabilidad del fármaco. Dependiendo del producto y del tipo de célula utilizada, la producción de proteínas recombinantes puede ser un proceso simple o más complejo. Aunque la complejidad del proceso aumentaría el costo final del producto, el valor nunca

sobrepasará al gasto de aislar el compuesto desde su fuente original (por ejemplo, obtención de insulina a partir de páncreas de porcinos o bovinos) para llegar a cantidades medicinales.

Productos biotecnológicos destinados a la salud humana

La ingeniería genética permite que numerosas proteínas potencialmente terapéuticas, que antes se producían solo en pequeñas cantidades, puedan elaborarse en grandes cantidades.

En la actualidad existen más de 30 proteínas aprobadas para su uso clínico, y cientos de genes de proteínas terapéuticas que se han expresado a nivel de laboratorio y que están intentando demostrar su adecuación clínica.

En Argentina, la autoridad regulatoria de la biotecnología aplicada a la salud es la Comisión Nacional de Biotecnología y Salud (CONBYSA), creada por Resolución N° 413/93, del Director de la Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT). Tiene como misión asesorar al gobierno nacional en lo referido al desarrollo y la aplicación de la biotecnología en el campo de la salud. Estudia y recomienda las normas vigentes que rigen el desarrollo, elaboración y aprobación de productos biotecnológicos destinados a la salud y consumo humano.

La tabla 1, enumera una diversidad de proteínas recombinantes que hoy se comercializan y emplean como fármacos para el tratamiento de diversas patologías en humanos. También pueden producirse antígenos y anticuerpos como proteínas recombinantes, que se emplean en la confección de kits o sistemas de diagnóstico de diversas enfermedades.

La insulina: estructura y función

La insulina es una hormona producida por el páncreas. Tiene una estructura proteica y su función consiste en regular la concentración de glucosa en la sangre. Sin la insulina, la glucosa se acumula en la sangre hasta que alcanza niveles elevados y puede causar diferentes complicaciones en el funcionamiento del organismo. Esta es la enfermedad conocida como diabetes mellitus. Cuando la diabetes es causada por una escasa o nula producción de insulina, se puede regular el nivel de glucosa en la sangre (glucemia) mediante la administración exógena de insulina.

En 1921, los fisiólogos canadienses Frederick G. Banting y Charles H. Best extrajeron por primera vez la insulina del tejido pancreático de perros, y en 1923 la insulina estaba comercialmente disponible en los Estados Unidos. Luego, la insulina para diabéticos se obtuvo a partir de páncreas de cerdos o vacas, que aunque es biológicamente activa en humanos, no es idéntica a la humana, de modo que se pueden producir algunos problemas de reacciones inmunes adversas. (Ver figura 1)

La insulina es una hormona proteica constituida por 51 aminoácidos. La síntesis de insulina atraviesa diferentes etapas: se fabrica como preproinsulina que luego se transforma en proinsulina al cortarse sus extremos. La mayoría de la proinsulina se separa en dos partes: el "péptido C" (conector) y la insulina, que está constituida por dos cadenas polipeptídicas, una de 21 aminoácidos y otra de 30, unidas por dos puentes disulfuro.

La insulina recombinante

La insulina es el primer caso de proteína producida por ingeniería genética aprobada para uso en humanos, desde 1982. En la actualidad, varios laboratorios farmacéuticos producen insulina humana,

tanto a partir de bacterias como de levaduras, y sin ningún riesgo para la salud.

En la figura 2 se muestra un esquema general de la obtención de insulina a partir de páncreas de vacas o cerdos, y en la figura 3 la obtención mediante ingeniería genética.

Si bien estos son los pasos a seguir para la obtención de insulina recombinante, si se inserta en el plásmido bacteriano el gen entero de la insulina, se obtendría como resultado la preproinsulina. Para evitar estas dificultades se sintetizan químicamente la secuencia de ADN correspondiente a las cadenas polipeptídicas A y B que se insertan separadamente en un gen bacteriano. Los plásmidos recombinantes se introducen en bacterias *E. coli*, donde se multiplican. Una vez purificadas las dos cadenas, se unen mediante una reacción que forma puentes disulfuro (de azufre) y se obtiene insulina humana pura. El producto final, la insulina humana biosintética, es idéntica en todos los aspectos a la insulina purificada del páncreas humano.

