

PRODUÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE PROTEÍNAS RECOMBINANTES APLICADAS AO DIAGNÓSTICO VETERINÁRIO

Cleber Ferreira Ramos Rodrigues¹
Kéthelin Fagundes Pussi²

Resumo: A produção de proteínas recombinantes representa uma das principais ferramentas da biotecnologia moderna, com ampla aplicação no diagnóstico de doenças veterinárias. A partir da tecnologia de DNA recombinante, é possível expressar proteínas de interesse em sistemas heterólogos, garantindo maior pureza, reprodutibilidade e segurança em comparação com métodos tradicionais. Este trabalho aborda os principais conceitos envolvidos na produção de proteínas recombinantes, incluindo clonagem molecular, sistemas de expressão e processos de purificação, além de métodos de caracterização estrutural e funcional. Também são discutidas as aplicações dessas proteínas no diagnóstico de doenças infecciosas em animais, destacando sua importância na detecção precoce e no controle sanitário. Por fim, são analisadas as vantagens, desafios e perspectivas futuras da utilização dessa tecnologia na área veterinária.

Palavras-chave: DNA recombinante; proteínas recombinantes; diagnóstico veterinário; biotecnologia; expressão gênica.

Abstract: The production of recombinant proteins represents one of the main tools of modern biotechnology, with wide application in the diagnosis of veterinary diseases. Using recombinant DNA technology, it is possible to express proteins of interest in heterologous systems, ensuring greater purity, reproducibility, and safety compared to traditional methods. This work addresses the main concepts involved in the production of recombinant proteins, including molecular cloning, expression systems, and purification processes, as well as methods for structural and functional characterization. The applications of these proteins in the diagnosis of infectious diseases in animals are also discussed, highlighting their importance in early detection and sanitary control. Finally, the advantages, challenges, and future perspectives of using this technology in the veterinary field are analyzed.

Keywords: Recombinant DNA; recombinant proteins; veterinary diagnosis; biotechnology; gene expression.

¹ Graduação em Medicina Veterinária. Faculdade de Ciências Sociais e Agrárias de Itapeva, FAIT. (2014)

² Mestrado em Ensino de Ciências. Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, UFMS. (2025)

1. INTRODUÇÃO

A biotecnologia tem desempenhado papel fundamental no avanço das ciências veterinárias, especialmente no desenvolvimento de ferramentas diagnósticas mais sensíveis e específicas. Nesse contexto, a produção de proteínas recombinantes surge como uma estratégia inovadora para a obtenção de antígenos utilizados em testes sorológicos e moleculares (SAMBROOK & RUSSELL, 2001). A tecnologia de DNA recombinante permite a inserção de genes de interesse em organismos hospedeiros, possibilitando a produção em larga escala de proteínas com alta pureza (WATSON et al., 2014).

Historicamente, o diagnóstico de doenças veterinárias dependia da utilização de antígenos obtidos diretamente de patógenos, o que envolvia riscos biológicos e limitações na padronização. Com o advento das técnicas recombinantes, tornou-se possível superar essas dificuldades, proporcionando maior segurança e reprodutibilidade nos testes (BROWN, 2016). Além disso, proteínas recombinantes podem ser modificadas para aumentar sua imunogenicidade ou estabilidade, ampliando sua aplicabilidade (ROSANO & CECCARELLI, 2014).

A crescente demanda por métodos diagnósticos rápidos e confiáveis impulsiona o desenvolvimento de proteínas recombinantes específicas para diferentes patógenos veterinários. Essas proteínas são amplamente utilizadas em ensaios como ELISA, imunocromatografia e testes moleculares (GOMES et al., 2018). Assim, compreender os processos envolvidos na produção e caracterização dessas moléculas é essencial para o avanço da medicina veterinária.

2. CONCEITOS DE DNA RECOMBINANTE

O DNA recombinante consiste na combinação de material genético proveniente de diferentes fontes, formando uma nova sequência capaz de expressar características específicas (COHEN et al., 1973). Essa tecnologia baseia-se na utilização de enzimas de restrição, que clivam o DNA em regiões específicas, e ligases, responsáveis pela união dos fragmentos (BERG et al., 2002).

O processo inicia-se com a identificação do gene de interesse, seguido de sua amplificação por técnicas como PCR. Em seguida, o gene é inserido em um vetor de clonagem, geralmente um plasmídeo, que será introduzido em um organismo hospedeiro (ALBERTS et al., 2015). Esse vetor contém elementos essenciais, como promotores, marcadores de seleção e regiões de replicação.

Uma das principais vantagens do DNA recombinante é a possibilidade de produzir proteínas em ambientes controlados, reduzindo riscos biológicos. Além disso, permite modificações genéticas que podem melhorar a expressão e a funcionalidade das proteínas (LODISH et al., 2016). Essa tecnologia é amplamente utilizada na produção de vacinas, enzimas industriais e proteínas diagnósticas.

3. SISTEMAS DE EXPRESSÃO DE PROTEÍNAS

A escolha do sistema de expressão é um fator crítico na produção de proteínas recombinantes. Os sistemas mais utilizados incluem bactérias, leveduras e células de mamíferos (ROSANO & CECCARELLI, 2014).

O sistema bacteriano, especialmente *Escherichia coli*, é amplamente empregado devido ao seu rápido crescimento e baixo custo. No entanto, apresenta limitações na formação de proteínas complexas e na realização de modificações pós-traducionais (BANEYX, 1999).

As leveduras, como *Saccharomyces cerevisiae*, representam uma alternativa intermediária, permitindo algumas modificações pós-traducionais e maior solubilidade proteica. Além disso, são relativamente fáceis de cultivar (ROMANOS et al., 1992).

Já os sistemas de células de mamíferos oferecem a maior fidelidade na produção de proteínas com estrutura e função semelhantes às naturais. Contudo, apresentam custos elevados e maior complexidade operacional (KIM et al., 2012).

A escolha do sistema depende do tipo de proteína, da necessidade de modificações estruturais e da aplicação final.

4. CLONAGEM MOLECULAR DE GENES DE INTERESSE

A clonagem molecular é uma etapa essencial na produção de proteínas recombinantes. Ela envolve a inserção de um gene específico em um vetor apropriado para posterior expressão (GREEN & SAMBROOK, 2012).

Inicialmente, o gene de interesse é isolado e amplificado. Em seguida, é inserido em um vetor utilizando técnicas como digestão enzimática e ligação. O vetor recombinante é então introduzido em células hospedeiras por transformação ou transfeção (BROWN, 2016).

A seleção das células transformadas é realizada por meio de marcadores genéticos, como resistência a antibióticos. Após a seleção, as colônias são analisadas para confirmar a presença do gene inserido (ALBERTS et al., 2015).

Esse processo permite a obtenção de clones estáveis capazes de produzir grandes quantidades da proteína desejada.

5. EXPRESSÃO E PURIFICAÇÃO DE PROTEÍNAS RECOMBINANTES

A expressão proteica ocorre quando o gene inserido é transcrito e traduzido pela maquinaria celular do hospedeiro. Esse processo pode ser regulado por promotores específicos e condições ambientais controladas (LODISH et al., 2016).

Após a expressão, a proteína recombinante deve ser purificada. Técnicas como cromatografia de afinidade, troca iônica e filtração em gel são amplamente utilizadas (SCOPES, 1994). A adição de tags proteicas, como His-tag, facilita o processo de purificação.

Entretanto, desafios como formação de corpos de inclusão e baixa solubilidade podem ocorrer, especialmente em sistemas bacterianos. Estratégias como coexpressão de chaperonas ou uso de sistemas alternativos podem ser empregadas para contornar esses problemas (BANEYX, 1999).

A purificação eficiente é fundamental para garantir a qualidade da proteína, especialmente quando destinada ao diagnóstico.

6. MÉTODOS DE CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL E FUNCIONAL

A caracterização das proteínas recombinantes envolve a análise de sua estrutura e função. Técnicas como espectroscopia, cristalografia de raios X e ressonância magnética nuclear são utilizadas para determinar a estrutura tridimensional (NELSON & COX, 2017).

Do ponto de vista funcional, ensaios imunológicos e enzimáticos permitem avaliar a atividade biológica da proteína. Métodos como ELISA são amplamente utilizados para verificar a capacidade de reconhecimento antigênico (GOMES et al., 2018).

Essas análises são essenciais para validar a aplicação da proteína em diagnósticos veterinários.

7. APLICAÇÕES NO DIAGNÓSTICO DE DOENÇAS

Proteínas recombinantes são amplamente utilizadas no diagnóstico de doenças infecciosas em animais, como brucelose, leishmaniose e leptospirose (OIE, 2021).

Essas proteínas permitem a produção de testes mais específicos, reduzindo reações cruzadas. Em ensaios ELISA, por exemplo, antígenos recombinantes são utilizados para detectar anticorpos em amostras biológicas (GOMES et al., 2018).

Além disso, testes rápidos baseados em imunocromatografia utilizam proteínas recombinantes para diagnóstico em campo, facilitando o controle de doenças (SILVA et al., 2019).

8. VANTAGENS E DESAFIOS NA PRODUÇÃO EM LARGA ESCALA

A produção de proteínas recombinantes apresenta diversas vantagens, como alta pureza, padronização e segurança biológica (ROSANO & CECCARELLI, 2014).

Entretanto, desafios como custo de produção, escalabilidade e estabilidade proteica ainda persistem. Sistemas de expressão mais complexos, como células de mamíferos, aumentam significativamente os custos (KIM et al., 2012).

9. PERSPECTIVAS BIOTECNOLÓGICAS

O avanço da engenharia genética e da biologia sintética promete otimizar a produção de proteínas recombinantes, está diretamente ligado aos avanços em biologia sintética, engenharia genética e automação de processos. Tecnologias como CRISPR e sistemas de expressão otimizados prometem aumentar a eficiência produtiva e reduzir custos (DOUDNA & CHARPENTIER, 2014).

Além disso, novas plataformas diagnósticas estão sendo desenvolvidas, integrando proteínas recombinantes com biossensores e nanotecnologia (ZHANG et al., 2020).

10. CONCLUSÃO

A produção de proteínas recombinantes representa uma das mais importantes inovações da biotecnologia aplicada à medicina veterinária. Ao permitir a obtenção de proteínas altamente purificadas, específicas e seguras, essa tecnologia revolucionou os métodos diagnósticos tradicionais, contribuindo significativamente para o controle e a prevenção de doenças infecciosas em animais (SAMBROOK & RUSSELL, 2001).

A utilização de sistemas de expressão heterólogos possibilita a adaptação da produção às necessidades específicas de cada proteína, embora ainda existam desafios relacionados à escolha do sistema ideal e à otimização das condições de expressão (ROSANO & CECCARELLI, 2014). A clonagem molecular e os avanços em engenharia genética têm facilitado a manipulação de genes de interesse, ampliando as possibilidades de aplicação dessas proteínas (ALBERTS et al., 2015).

Além disso, os métodos de purificação e caracterização têm evoluído significativamente, garantindo maior qualidade e funcionalidade das proteínas produzidas. Esses avanços são fundamentais para assegurar a confiabilidade dos testes diagnósticos, especialmente em contextos veterinários, onde a detecção precoce de doenças é essencial (GOMES et al., 2018).

Apesar das vantagens, ainda existem desafios importantes, como os custos de produção em larga escala e a necessidade de infraestrutura especializada. No entanto, o desenvolvimento contínuo de novas tecnologias e metodologias tende a minimizar essas limitações (KIM et al., 2012).

As perspectivas futuras são promissoras, com a integração de ferramentas como biologia sintética, inteligência artificial e nanotecnologia, que podem revolucionar ainda mais a produção e aplicação de proteínas recombinantes (ZHANG et al., 2020).

Portanto, conclui-se que a produção de proteínas recombinantes continuará desempenhando papel central no diagnóstico veterinário, contribuindo para a melhoria da saúde animal e da segurança sanitária global.

11. REFERÊNCIAS

ALBERTS, Bruce et al. **Biologia molecular da célula**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2015.

BANEYX, François. Recombinant protein expression in *Escherichia coli*. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 10, n. 5, p. 411–421, 1999.

BERG, Jeremy M.; TYMOCZKO, John L.; STRYER, Lubert. **Bioquímica**. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002.

BROWN, T. A. **Clonagem gênica e análise de DNA: uma introdução**. 7. ed. Porto Alegre: Artmed, 2016.

COHEN, Stanley N. et al. Construction of biologically functional bacterial plasmids in vitro. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 70, n. 11, p. 3240–3244, 1973.

DOUDNA, Jennifer A.; CHARPENTIER, Emmanuelle. The new frontier of genome engineering with CRISPR-Cas9. **Science**, v. 346, n. 6213, 2014.

GOMES, Mariana et al. Recombinant proteins in veterinary diagnostics. **Veterinary Research**, v. 49, n. 1, p. 1–10, 2018.

KIM, J. Y. et al. CHO cells in biotechnology for production of recombinant proteins. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 93, p. 917–930, 2012.

LODISH, Harvey et al. **Biologia celular e molecular**. 8. ed. Porto Alegre: Artmed, 2016.

NELSON, David L.; COX, Michael M. **Princípios de bioquímica de Lehninger**. 7. ed. Porto Alegre: Artmed, 2017.

OIE – WORLD ORGANISATION FOR ANIMAL HEALTH. **Manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals**. Paris: OIE, 2021.

ROMANOS, Michael A.; SCORER, Clare A.; SREEKUMAR, Rajesh. Expression of recombinant proteins in yeast. **Yeast**, v. 8, n. 6, p. 423–488, 1992.

ROSANO, Germán L.; CECCARELLI, Eduardo A. Recombinant protein expression in *Escherichia coli*: advances and challenges. **Frontiers in Microbiology**, v. 5, p. 172, 2014.

SAMBROOK, Joseph; RUSSELL, David W. **Molecular cloning: a laboratory manual**. 3. ed. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2001.

SCOPES, Robert K. **Protein purification: principles and practice**. 3. ed. New York: Springer, 1994.

SILVA, A. S. et al. Rapid diagnostic tests using recombinant proteins. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 31, n. 2, p. 145–152, 2019.

WATSON, James D. et al. **DNA recombinante: genes e genomas**. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2014.

ZHANG, Y. et al. Advances in biosensors for detection of veterinary pathogens. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 165, p. 112349, 2020.