



# Abordagens de biologia sintética para o diagnóstico e tratamento do cancro

Lígia R. Rodrigues

IBB – Institute for Biotechnology and Bioengineering, Centre of Biological Engineering, University of Minho, Braga, Portugal

E-mail: [lrmr@deb.uminho.pt](mailto:lrmr@deb.uminho.pt)

O cancro é um problema de saúde pública representando uma das principais causas de morte a nível mundial [1]. Estimam-se cerca de 13.1 milhões de mortes relacionadas com cancro em 2030, sendo que 0.8 milhões corresponderão a cancro da mama. Neste sentido, qualquer progresso científico que permita melhorar o diagnóstico e tratamento do cancro constitui uma prioridade global. As estratégias que têm vindo a ser desenvolvidas ao longo dos anos incluem a procura de novos biomarcadores, agentes terapêuticos ou tratamentos [2]. As abordagens de biologia sintética apresentam várias possibilidades de melhorar os meios de diagnóstico e terapias existentes, bem como potencial para o desenvolvimento de novas soluções que ainda não tenham sido previstas [3].

A biologia sintética consiste na utilização de princípios de engenharia para criar, de forma racional e sistemática, sistemas funcionais com base nas máquinas moleculares e circuitos de regulação dos organismos vivos ou re-desenhar e fabricar sistemas biológicos existentes. O foco da biologia sintética consiste frequentemente em transportar partes de sistemas biológicos naturais, caracterizá-los e simplificá-los, e posteriormente utilizá-los como componentes de um sistema biológico artificialmente construído [4].

Tradicionalmente, a maioria das drogas têm sido geradas a partir de compostos obtidos de produtos naturais [5]. No entanto, os avanços na sequenciação genética juntamente com a possível manipulação de vias biossintéticas, constituem recursos importantes para a seleção e conceção de novos agentes terapêuticos [6]. Adicionalmente, o desenvolvimento de abordagens racionais através do uso da bioinformática para integração de dados permite a compreensão dos mecanismos subjacentes ao efeito anti-cancerígeno desses mesmos agentes [7]. A biologia sintética pode ainda desempenhar um papel crucial no desenvolvimento de novos sistemas de libertação controlada de drogas dirigidos para alvos específicos. As células podem ser manipuladas para reconhecer alvos específicos ou condições no corpo humano que não são naturalmente reconhecidas pelo sistema imunitário [8].

Futuras e promissoras aplicações incluem o desenvolvimento de biossensores com base em aptâmeros para produzir uma resposta desejada *in vivo* ou para serem integrados num dispositivo de diagnóstico de cancro; o desenho e manipulação de bactérias que podem ser programados para especificamente reconhecer um tumor e libertar um agente terapêutico *in situ*; a produção em grande escala de agentes quimioterapêuticos complexos, entre outros.

Actualmente no Centro de Engenharia Biológica (CEB) da Universidade do Minho estão a ser usadas estratégias de biologia sintética no desenvolvimento de novas soluções para o diagnóstico e tratamento do cancro. A investigação em curso inclui a seleção e otimização de aptâmeros para o reconhecimento e tratamento do cancro da mama; desenho de aptasensores para a deteção do cancro da mama; desenho e construção de bactérias para o tratamento de cancro de mama; e construção de vias biossintéticas artificiais em bactérias para a produção de agentes anti-cancerígenos.

## Aptâmeros para o diagnóstico e tratamento de cancro de mama

Os aptâmeros, ácidos nucleicos de cadeia simples sujeitos a um processo de evolução, podem reconhecer especificamente e ligar-se firmemente a uma grande variedade de alvos [9] (Fig.1). São obtidos pela metodologia SELEX, que se baseia no seu enriquecimento numa biblioteca inicial de seqüências aleatórias de ADN ou ARN quando incubada com o alvo (e.g. células cancerosas).

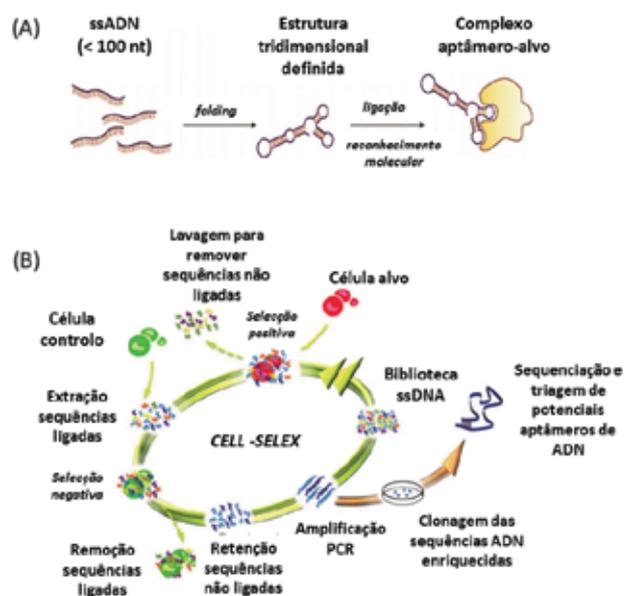


Figura 1 – Representação esquemática da funcionalidade de um aptâmero (A) e da metodologia Cell-SELEX (B).

A sua afinidade é comparável à dos anticorpos, embora possuam muitas outras vantagens: tamanho; produção fácil, rápida e reprodutível; modificação química versátil; eleva-

da estabilidade; baixa imunogenicidade e boa penetração nos tecidos. Alguns aptâmeros têm também sido apontados como possíveis agentes anti-cancerígenos [10]. O uso comercial dos aptâmeros é incipiente, contudo a sua singularidade promete revolucionar a área médica. O projeto em curso pretende gerar aptâmeros contra células de cancro da mama, e usá-los para desenhar nanopartículas multivalentes que reconheçam e internalizem o tumor libertando agentes terapêuticos. Aptâmeros que reconheçam especificamente as células de cancro da mama serão selecionados para melhorar o reconhecimento do tumor. O tamanho pequeno dos aptâmeros permite o seu acesso a alvos que não se encontram prontamente expostos na superfície da célula. A sua ligação a partículas contendo agentes ativos vai dirigí-las para esses locais permitindo um aumento da concentração intratumoral de agentes ativos. Os aptâmeros podem ser modificados para melhorar as suas características ou conferir-lhes novas (fluorescência) [9]. Neste sentido, estão a ser usadas ferramentas de biologia sintética para modificar os aptâmeros de forma a que possam ser detectados, e possuam melhor capacidade de reconhecimento das células de cancro, resultando em partículas mais robustas.

## Aptasensores para a deteção do cancro da mama

O desenvolvimento de biossensores eletroquímicos com base em aptâmeros (aptasensores) (Fig. 2) tem tornado a deteção de analitos pequenos e macromoleculares mais fácil, rápido e adequado para a deteção precoce de biomarcadores proteicos.

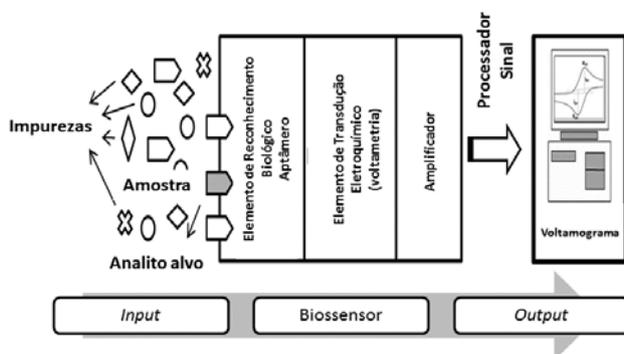


Figura 2 – Representação esquemática de um aptasensor eletroquímico

Os biomarcadores séricos são produzidos por órgãos ou tumores e revelam a presença de antígenos na superfície das células. Quando detetados em grandes quantidades nos fluidos biológicos, podem ser indicativos de atividade tumoral. O projeto em curso pretende desenvolver um multi-aptasensor eletroquímico para a deteção de osteopontina (proteína sobreexpressa em tumores da mama [2]) em fluidos biológicos. Como elementos de reconhecimento biológico estão a ser usados aptâmeros que foram selecionados e otimizados usando estratégias de biologia sintética. O uso dos aptâmeros permitirá aumentar a especificidade e seletividade do sensor para a osteopontina.

## Desenho e construção de bactérias para o tratamento do cancro da mama

As bactérias possuem características únicas e poderosas que podem ser exploradas no tratamento do cancro de formas inatingíveis por métodos convencionais. O sucesso moderado dos métodos convencionais (quimioterapia e radiação) prende-se com a sua toxicidade para o tecido normal e a sua incapacidade para destruir todas as células cancerosas. Muitas bactérias têm sido reportadas pela sua capacidade de reconhecer especificamente tumores, de penetrar activamente o tecido, de ser facilmente detetadas e/ou de induzir uma citotoxicidade controlada. Usando abordagens de biologia sintética é possível desenhar interações entre bactérias geneticamente manipuladas e células de mamíferos abrindo inúmeras possibilidades de progresso no tratamento do cancro. No âmbito do projeto SYNBIOBACTER, está a ser construída uma bactéria com capacidade de desencadear a síntese de um agente terapêutico *in situ* em resposta ao calor. A ideia é que a mesma possa ser usada simultaneamente com o tratamento de ultra-sons para o tratamento de cancro da mama, potenciando o efeito do agente terapêutico *in situ*.

## Construção de uma via biossintética artificial para a produção de agentes anti-cancerígenos

As abordagens de biologia sintética podem ainda ser utilizadas para desenvolver processos de produção em larga escala de agentes terapêuticos. Uma das estratégias usadas para construir vias biossintéticas artificiais consiste na combinação de genes de organismos diferentes e na criação de um novo conjunto de vias metabólicas para a produção de vários produtos naturais e não naturais. O exemplo mais conhecido consiste na construção de uma via metabólica artificial de produção do precursor da artemisinina (droga anti-malária) numa bactéria, permitindo a sua produção em grandes quantidades com uma diminuição significativa do tempo e os custos de produção [11]. O projeto em curso no CEB pretende construir uma nova via biossintética numa bactéria para a produção de compostos aromáticos naturais em plantas. A chave para esta abordagem consiste na especificação de sequências de genes que codificam enzimas que catalisam cada reação na via, e cujas sequências de ADN podem ser incorporadas em dispositivos que conduzem à expressão funcional das moléculas de interesse [12]. Partes específicas da via foram recrutadas a partir de fontes independentes e co-localizadas num único hospedeiro.

Apesar de todos os avanços científicos a que a humanidade tem assistido ao longo dos últimos séculos, ainda não há soluções claras e definitivas para eliminar o cancro. Neste sentido, a busca de soluções inovadoras e eficientes continua a conduzir a investigação e o investimento nesta área de conhecimento. Os avanços recentes proporcionados pelas abordagens de biologia sintética são promissores, embora alguns ainda longe de uma aplicação real devido a desafios

técnicos e questões éticas. No entanto, espera-se que este tipo de soluções inovadoras venha a revolucionar a área do diagnóstico e tratamento do cancro.

## Referências

- [1] Siegel R, Naishadham, D, Jemal A (2013) Cancer Statistics, 2013. CA Cancer J Clin 63:11-30.
- [2] Rodrigues LR, Teixeira JA, Schmitt F, Paulsson M, Lindmark Måsson H (2007) The role of osteopontin in tumour progression and metastasis in breast cancer. Cancer Epidemiol Biom Prev 16: 1087–1097
- [3] Rodrigues LR, Kluskens L. Synthetic Biology & Bioinformatics: Prospects in the cancer arena. In H.S. Lopes; L.M. Cruz (eds), Computational Biology and Applied Bioinformatics 8, pp. 159-186, InTech, Rijeka, Croatia, 2011 (ISBN: 978-953-307-629-4)
- [4] Endy D (2005) Foundations for engineering biology. Nature 438:449-453
- [5] Neumann H, Neumann-Staubitz P (2010) Synthetic biology approaches in drug discovery and pharmaceutical biotechnology. Appl Microbiol Biotechnol 87: 75-86
- [6] Carothers JM, Goler JA, Keasling JD (2009) Chemical synthesis using synthetic biology. Curr Opin Biotechnol 20: 498-503
- [7] Leonard E, Nielsen D, Solomon K, Prather KJ (2008) Engineering microbes with synthetic biology frameworks. Trends Biotechnol 26 (12): 674-681
- [8] Forbes NS (2010) Engineering the perfect (bacterial) cancer therapy. Nat Rev Cancer 10: 785-794
- [9] Stoltenburg R, Reinemann C, Strehlitz B (2007) SELEX – A (r)evolutionary method to generate high affinity nucleic acid ligands. Biomol Eng 24: 381-403
- [10] Zhou J, Rossi JJ (2009) The therapeutic potential of cell-internalizing aptamers. Curr Topics Med Chem 9(12):1144-1157
- [11] Martin VJ, Pitera DJ, Withers ST, Newman JD, Keasling JD (2003) Engineering a mevalonate pathway in Escherichia coli for production of terpenoids. Nat Biotechnol 21:796–802
- [12] Prather K, Martin CH (2008) De novo biosynthetic pathways: rational design of microbial chemical factories. Curr Opin Biotechnol 19: 468–474

**C**  
**O**  
**N**  
**G**  
**R**  
**E**  
**S**  
**S**  
**O**  
**S**  
**2**  
**0**  
**1**  
**4**

**3<sup>rd</sup> Euro-Mediterranean Conference on Natural Products: From BioTechnology to NanoMedicine (BioNat-III)**  
4-6 January 2014, Cairo, Egypt | <http://www.bionats.org/>

**2014 International Conference on Chemical and Bioprocess Engineering (ICCBE 2014)**  
24-25 January 2014, Macau | <http://www.iccbe.net/>

**International Conference on Biological, Chemical and Environmental Sciences (BCES-2014)**  
21-22 January 2014, Patong Beach, Phuket (Thailand) | <http://www.icbe.org/2014/01/21/36>

**Biology of RNA in host-pathogen interactions**  
26-29 January 2014, Tenerife, Canary Islands, Spain | [http://bioinfogp.cnb.csic.es/RNA\\_host\\_pathogen\\_2014/](http://bioinfogp.cnb.csic.es/RNA_host_pathogen_2014/)

**3<sup>rd</sup> Biotechnology World Congress**  
10-12 February 2014, Dubai, UAE | <http://www.biotechworldcongress.com/index.php>

**Lab-on-a-Chip European Congress**  
10-11 March 2014, Berlin, Germany | <http://selectbiosciences.com/conferences/index.aspx?conf=LOACEC2014>

**12<sup>th</sup> European Conference on Fungal Genetics**  
23-27 March 2014, Seville, Spain | 2014. <http://www.ecfgl2.com/cgi.hrb?idexp=EAHQ5&main=home>

**36<sup>th</sup> Symposium on Biotechnology for Fuels and Chemicals**  
April 28 – May 1 2014 | <http://www.simbhq.org/sbfc/>

**11<sup>th</sup> Annual World Congress on Industrial Biotechnology**  
12-15 May 2014, Philadelphia, USA | <http://www.bio.org/events/conferences/world-congress>

**European Biotechnology Congress 2014**  
15-18 May 2014, Lecce, Italy | <http://www.eurobiotech2014.eu/>

**22<sup>nd</sup> European Biomass Conference and Exhibition**  
23-26 June 2014, Hamburg, Germany | <http://www.eubce.com/>

**Recovery of Biological Products Conference XVI**  
27-31 July 2014, Rostock, Germany | <http://recoveryconferences.org/>

**10<sup>th</sup> European Symposium on Biochemical Engineering Sciences and 6<sup>th</sup> International Forum on Industrial Bioprocesses**  
7-10 September 2014, Lille, France | <http://esbes-ifibiop-lille2014.com/>