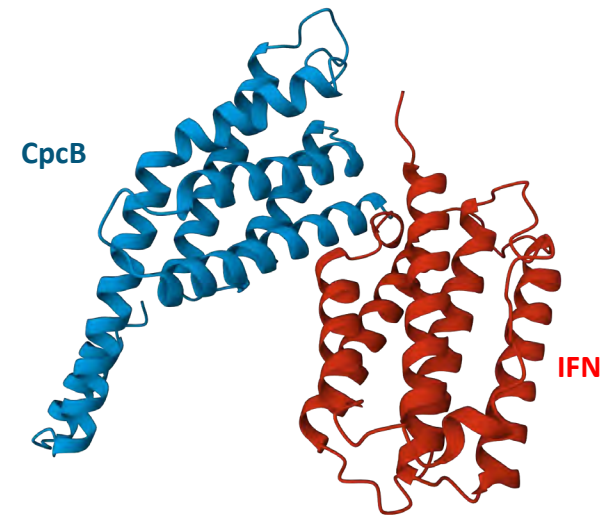
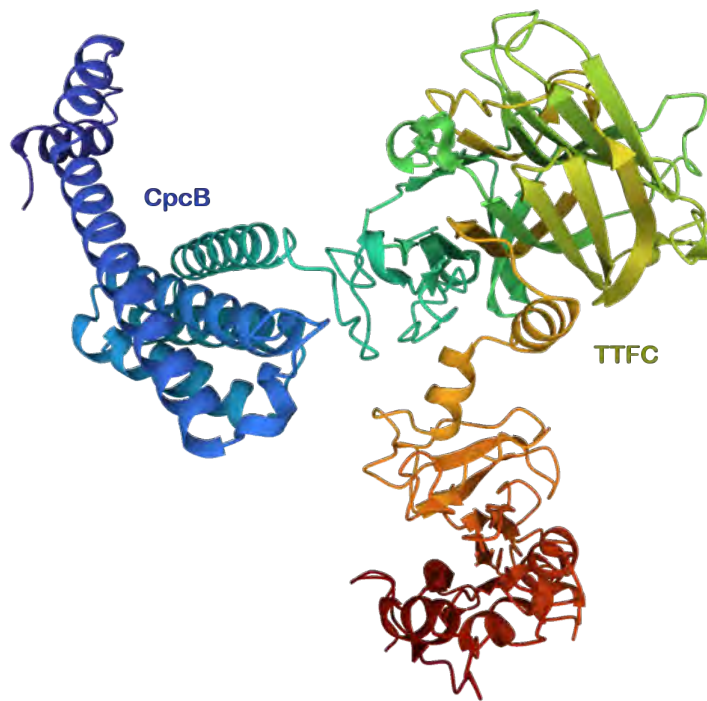


Producción de biofármacos en organismos fotosintéticos



Biofármaco = compuesto bioactivo de naturaleza peptídica
utilizado para tratar o controlar enfermedades



CLASIFICACIÓN

| Tipo de Biofármaco | Ejemplos | Enfermedad/Transtorno |
|--|--|--|
| Anticuerpos monoclonales | Adalimumab, Rituximab, Trastuzumab | Linfoma no Hodgkin, Artritis reumatoide, Cáncer de mama, colorrectal, de pulmón, Enfermedad de Crohn, etc. |
| Proteínas de fusión | Etanercept, Abatacept, Denosumab | Artritis reumatoide |
| Hormonas y factores de crecimiento | Insulina , Eritropoyetina, Hormona de crecimiento humano. | Diabetes, Trastornos del crecimiento, Hipotiroidismo |
| Factores sanguíneos y proteínas de coagulación | Reteplassa , Factor VIII, Factor IX, Factor de von Willebrand | Tratamiento trombolítico del infarto agudo de miocardio |
| Enzimas | L-asparaginasa, Glucocerebrosidasa, Uricasa | Leucemia linfoblástica aguda, Enfermedad de Pompe |
| Citocinas e interferones | Interferón alfa , Interleuquinas, Factor de necrosis tumoral | Esclerosis múltiple, Anemia, Neutropenia, Varios tipos de cáncer |
| Vacunas | Vacuna contra el virus del papiloma humano, tétanos , la influenza, la hepatitis B, EpiVacCorona (vacuna de antígenos peptídicos) | Infección por VPH y cáncer de cuello uterino, Influenza, Hepatitis B, SARS-CoV-2 |

CLASIFICACIÓN

Oncología

Enfermedades inflamatorias e infecciosas

Trastornos Autoinmunes

Trastornos Metabólicos

Aplicación terapéutica

Trastornos Hormonales

Enfermedades Cardiovasculares

Enfermedades neurológicas

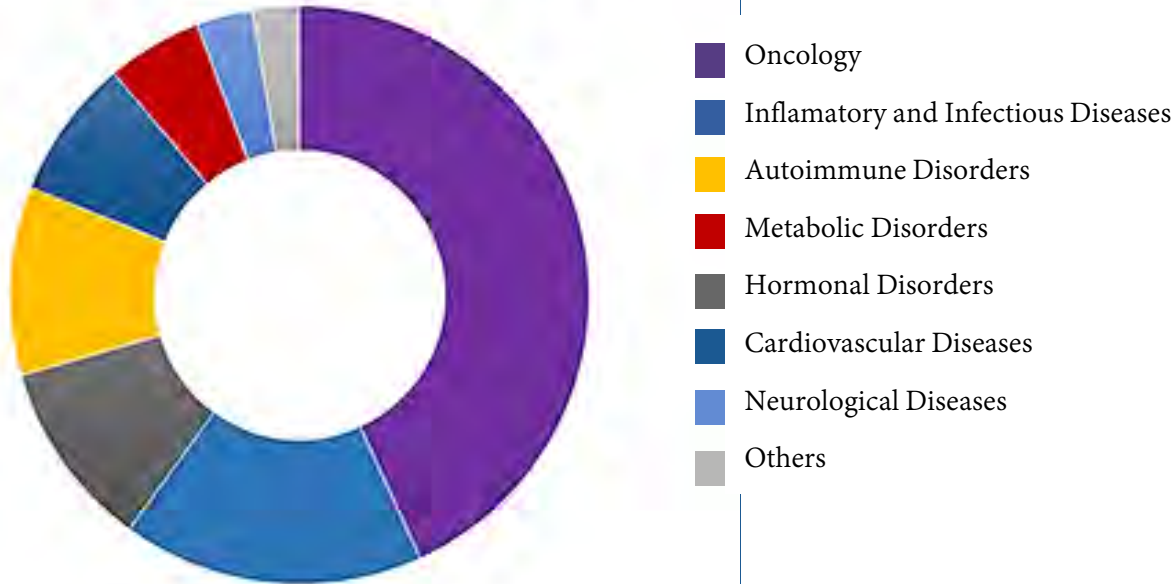
Otras aplicaciones terapéuticas

TAMAÑO DEL MERCADO Y DISTRIBUCIÓN.

- Se calcula que el mercado biofarmacéutico alcanzará los 407.720 millones de dólares en 2023 y una tasa proyectada de 8% anual*

Global biopharmaceuticals Market

Market Share by therapeutic Application (%)



Source: www.expertmarketresearch.com

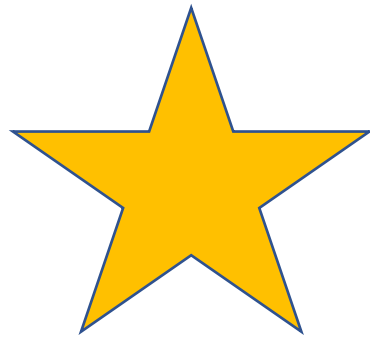
* <https://www.mordorintelligence.com/industry-reports/global-biopharmaceuticals-market-industry>



Pureza



Cantidad



Actividad

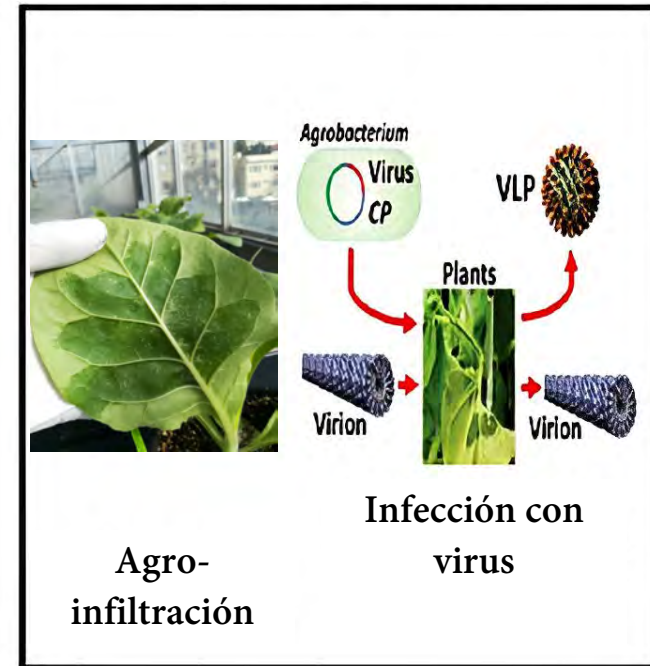
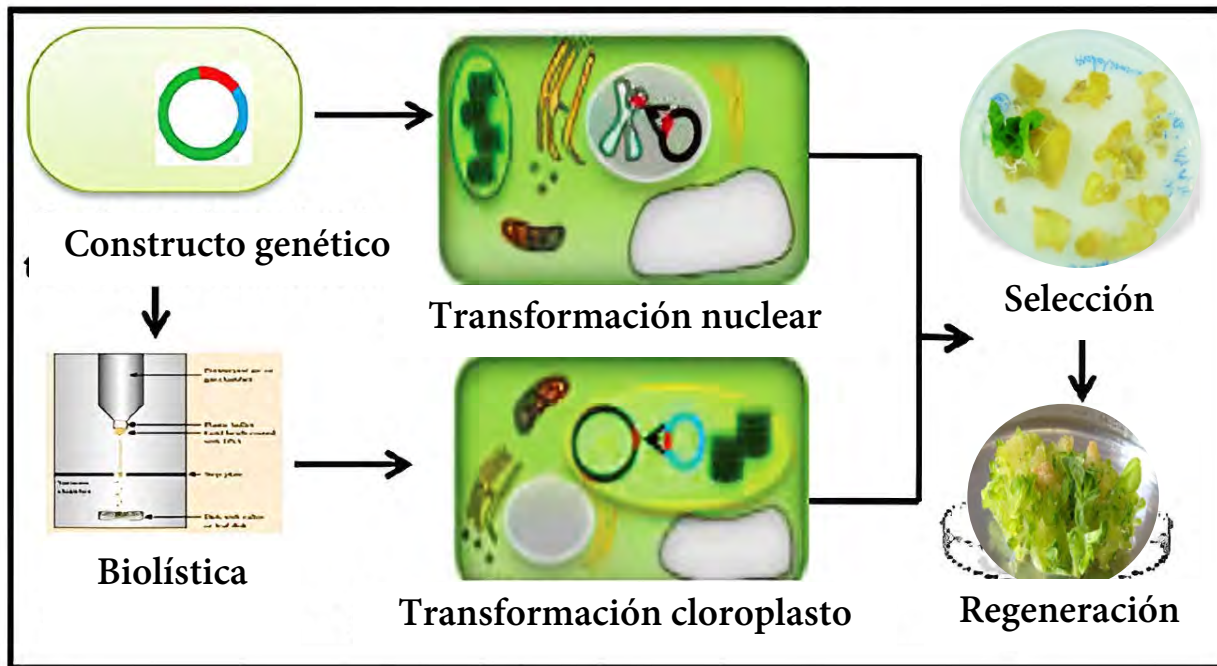
SISTEMAS DE EXPRESIÓN EN PLANTAS



DESARROLLO DEL SISTEMA DE EXPRESIÓN

Transformación estable

Expresión transitoria



SISTEMA DE EXPRESIÓN TRANSPLASTÓMICO



Nicotiana tabacum

SISTEMA DE EXPRESIÓN TRANSPLASTÓMICO

Biolística



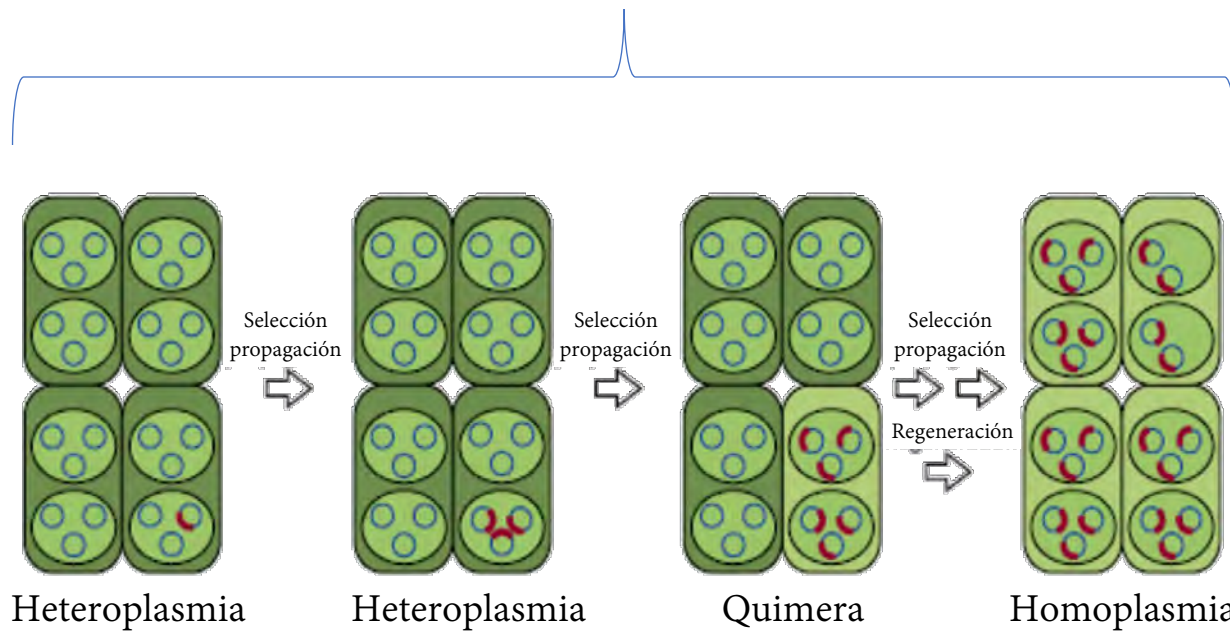
Selección /
Propagación



Regeneración

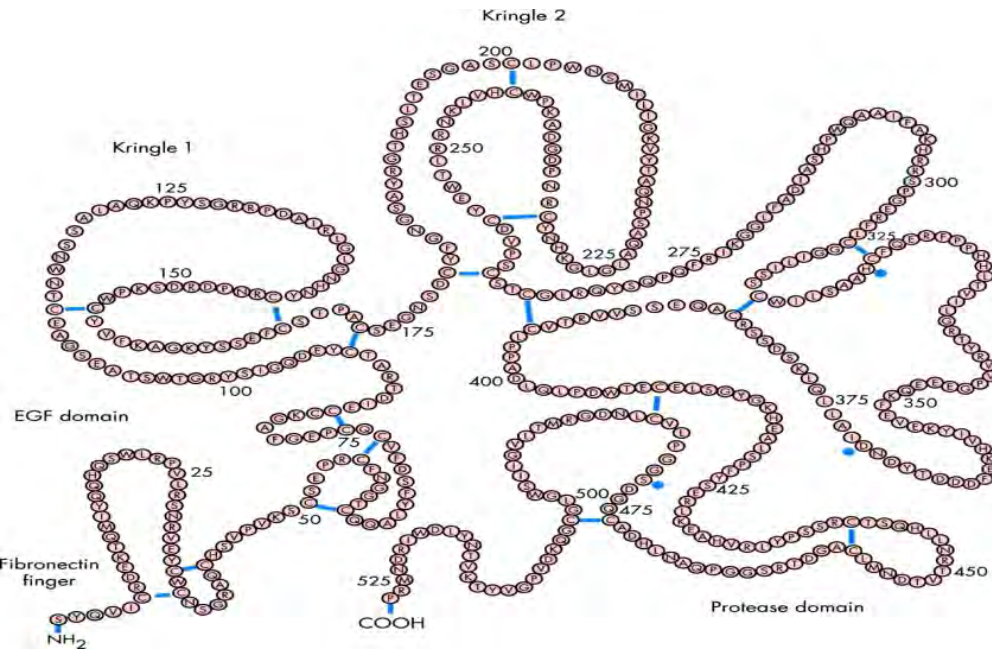


Desdiferenciación



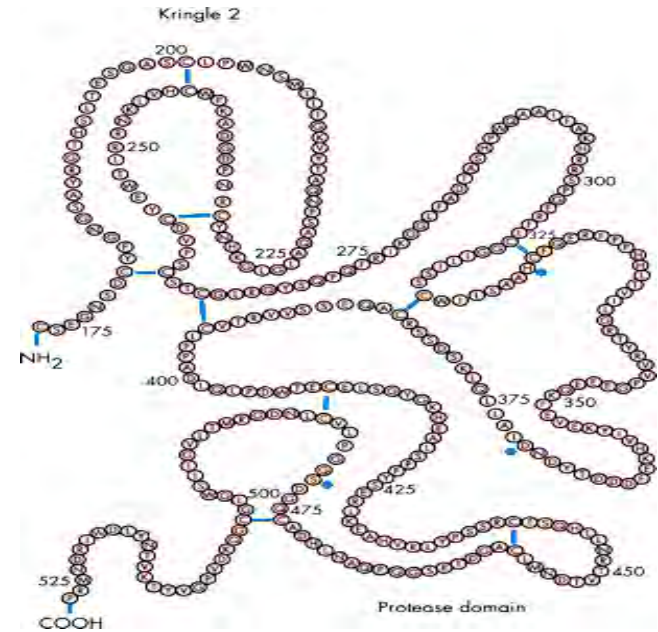
SISTEMA DE EXPRESIÓN TRANSPLASTÓMICO

tPA



- Glicoproteína de cadena única (62 kDa)
- 5 dominios funcionales
- 35 aminoácidos de cisteína, 17 puentes de disulfuro
- 3 N-glicosilación y 1 O-glicosilación
- Vida media 3-4 min

RETEPLASA



- No glicosilada (38 kDa)
- 2 dominios estructurales kringle-2 y serina proteasa.
- 18 aminoácidos de cisteína, 9 puentes de disulfuro
- Vida media plasmática 14-18 min, mejor difusión en el coágulo y mayor actividad fibrinolítica

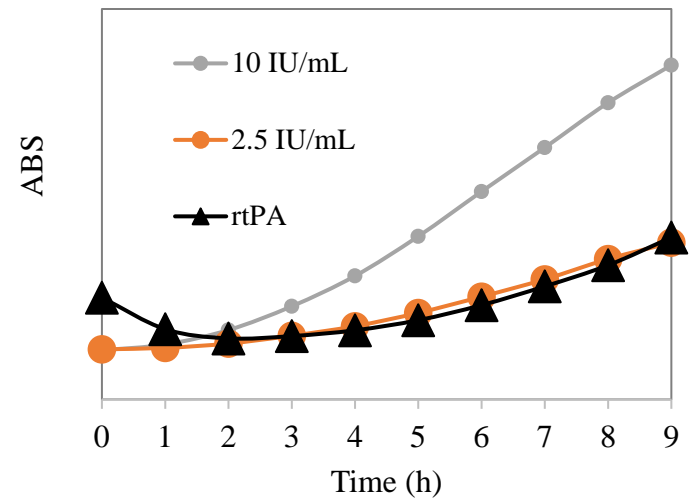
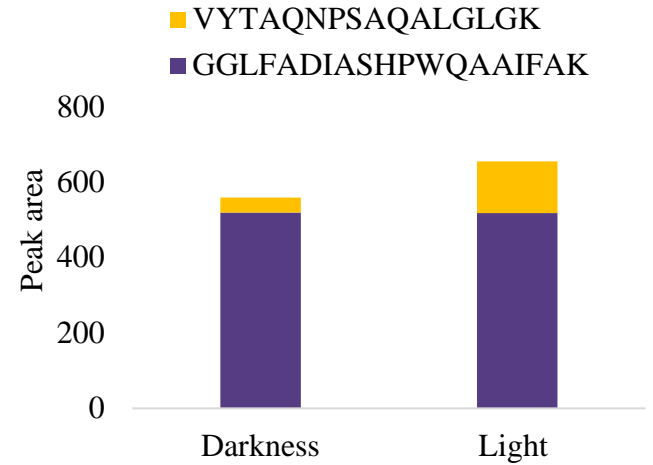
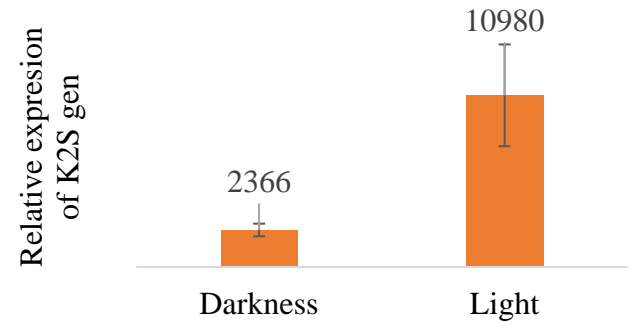
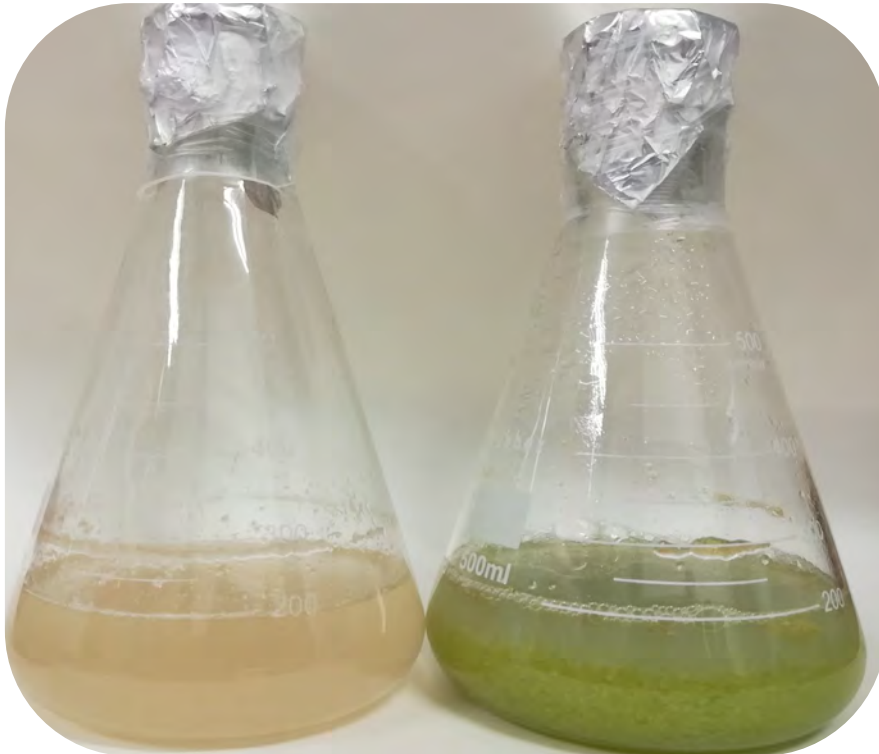


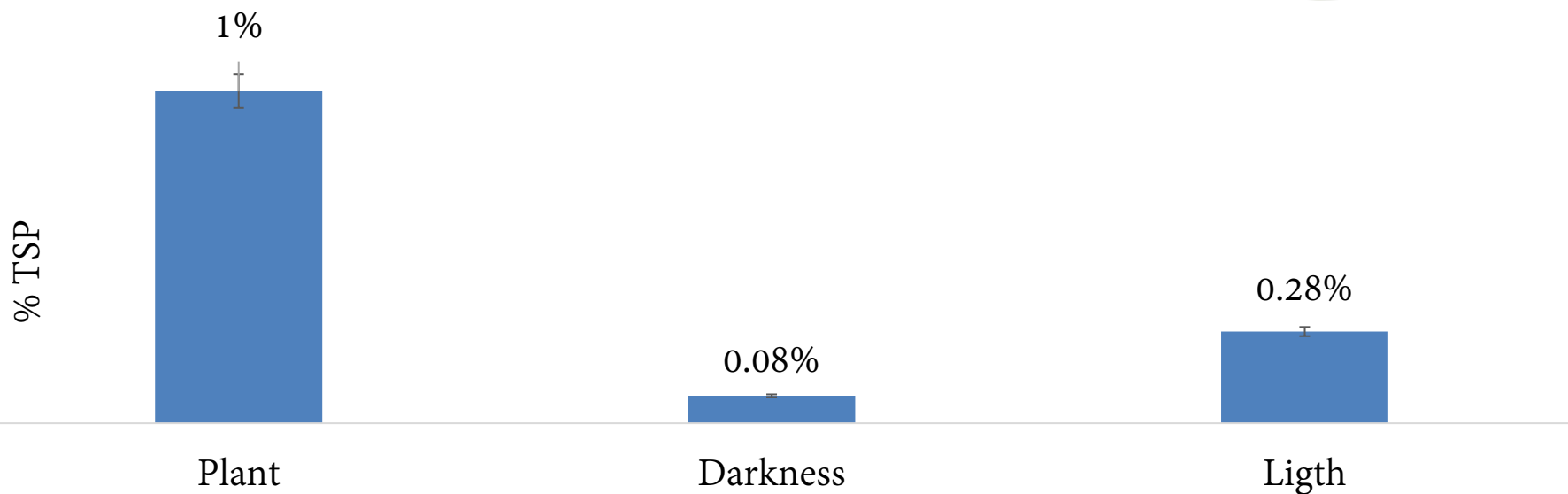
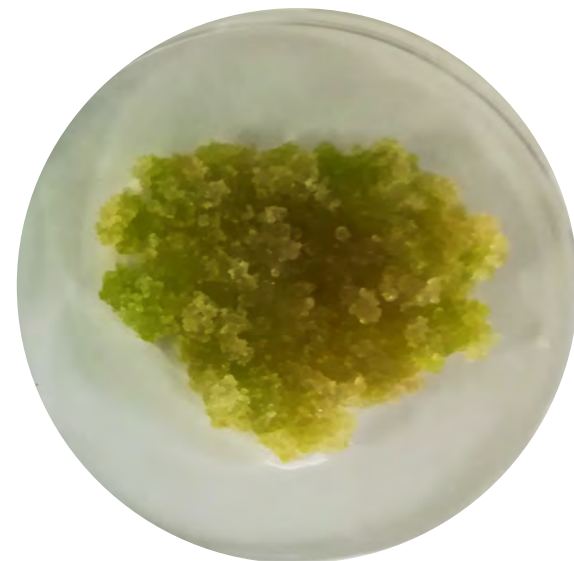
Research article

Biotechnological production of recombinant tissue plasminogen activator protein (reteplase) from transplastomic tobacco cell cultures

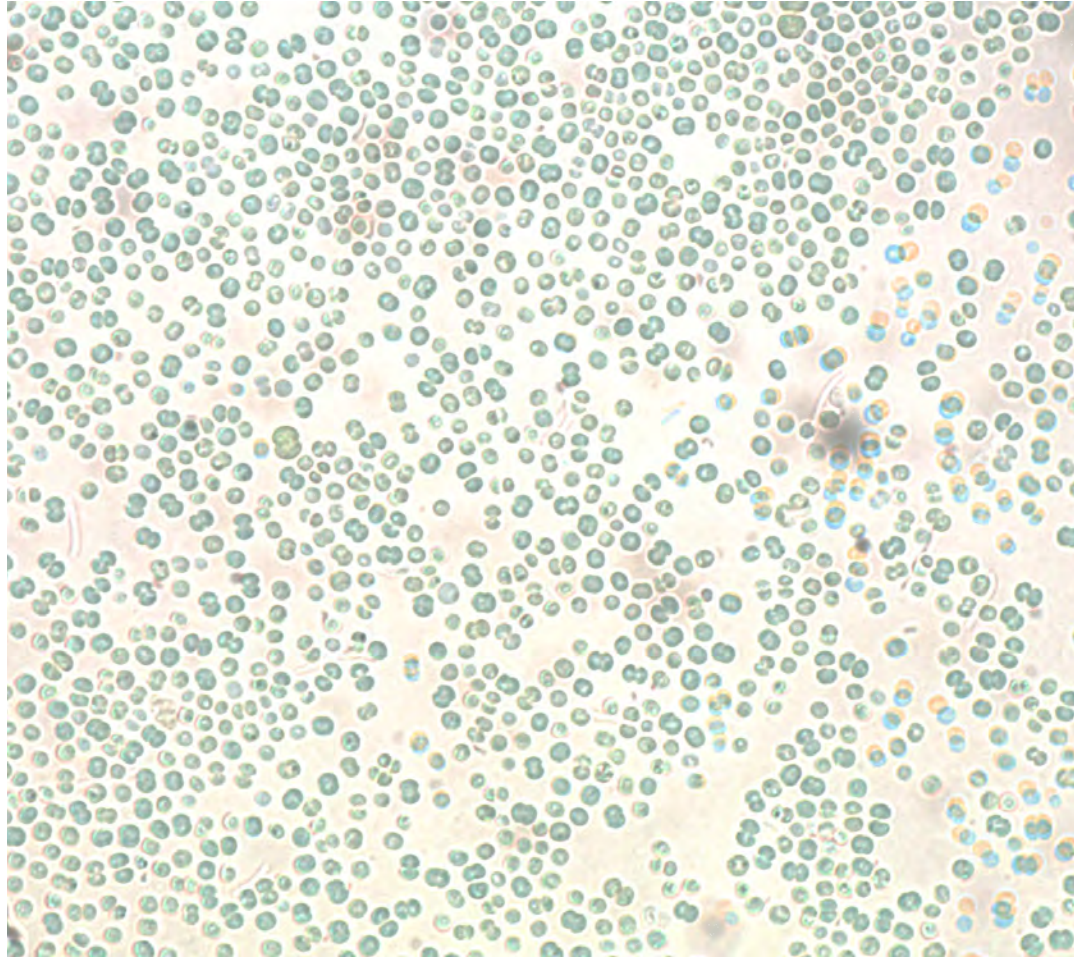


Diego Hidalgo ^{a,1}, Maryam Abdoli -Nasab ^b, Mokhtar Jalali-Javaran ^c,
Roque Bru-Martínez ^d, Rosa M. Cusidó ^a, Purificación Corchete ^e, Javier Palazon ^{a,*}





SISTEMA DE EXPRESIÓN BACTERIANO FOTOSINTÉTICO

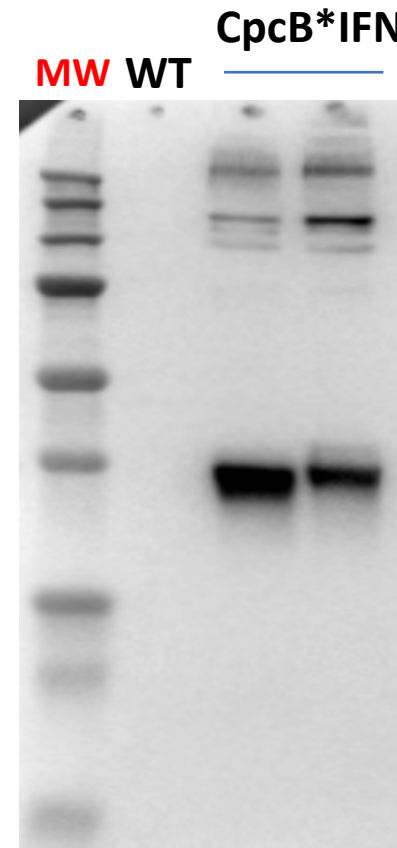
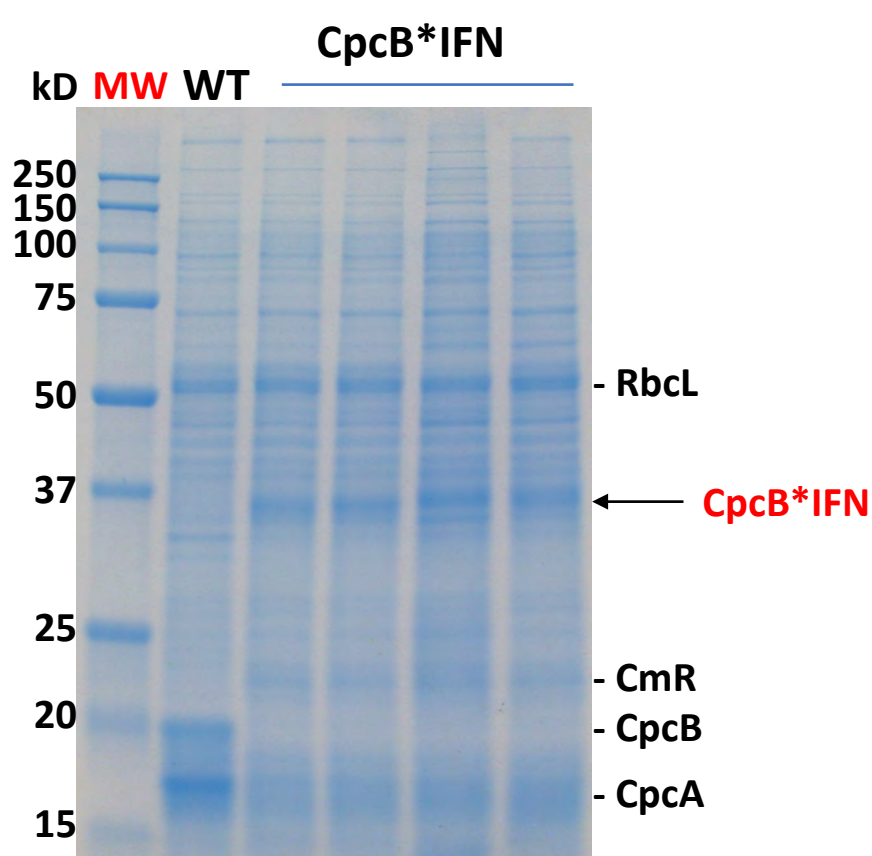
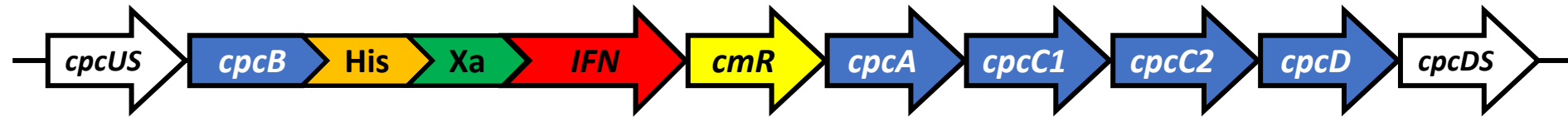


Synechocystis sp. PCC 6803

“Fusion constructs as protein overexpression vectors”

“Fusion constructs as protein overexpression vectors”

CpcB*IFN



“Fusion constructs as protein overexpression vectors”



Cyanobacterial Production of Biopharmaceutical and Biotherapeutic Proteins



*Nico Betterle, Diego Hidalgo Martinez and Anastasios Melis**

Department of Plant and Microbial Biology, University of California, Berkeley, Berkeley, CA, United States

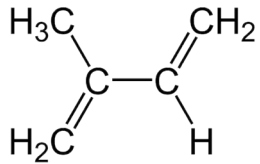
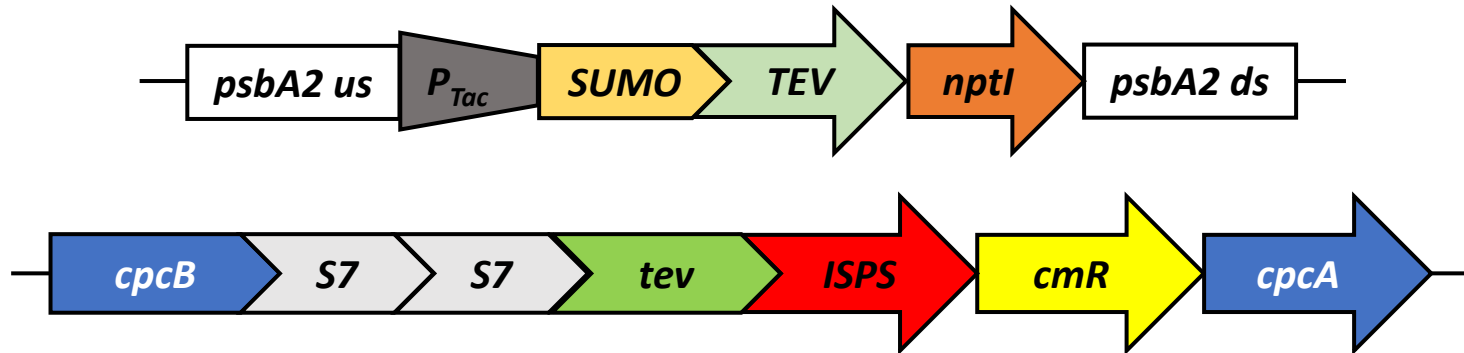
“Recombinant protein stability in cyanobacteria”

“Recombinant protein stability in cyanobacteria”

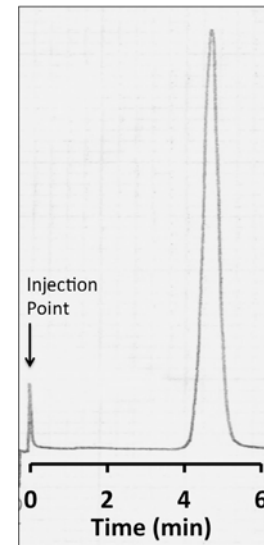
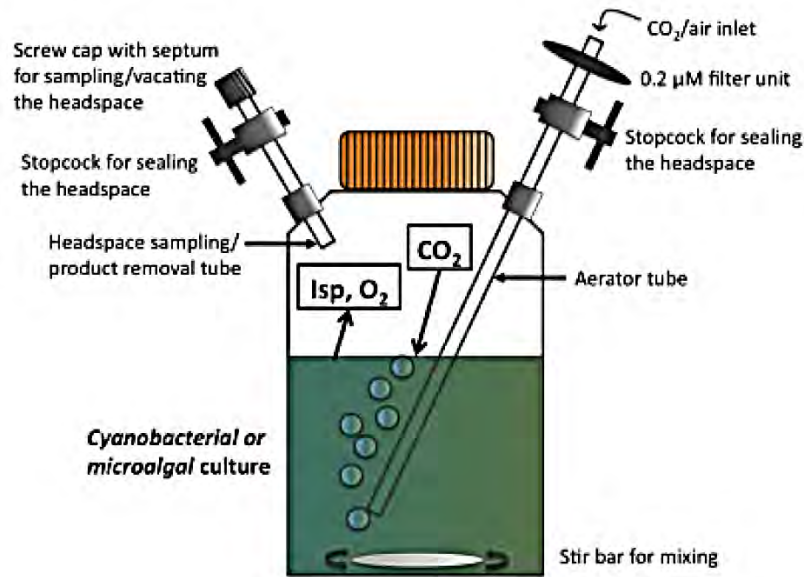
Las hipótesis generales a probar fueron:

- Una vez conseguida la acumulación de la proteína heteróloga su permanencia en la célula se mantendrá una vez separada la secuencia líder.
- Al removerse la fusión, la actividad enzimática de la proteína heteróloga se vera incrementada significativamente.

“Recombinant protein stability in cyanobacteria”



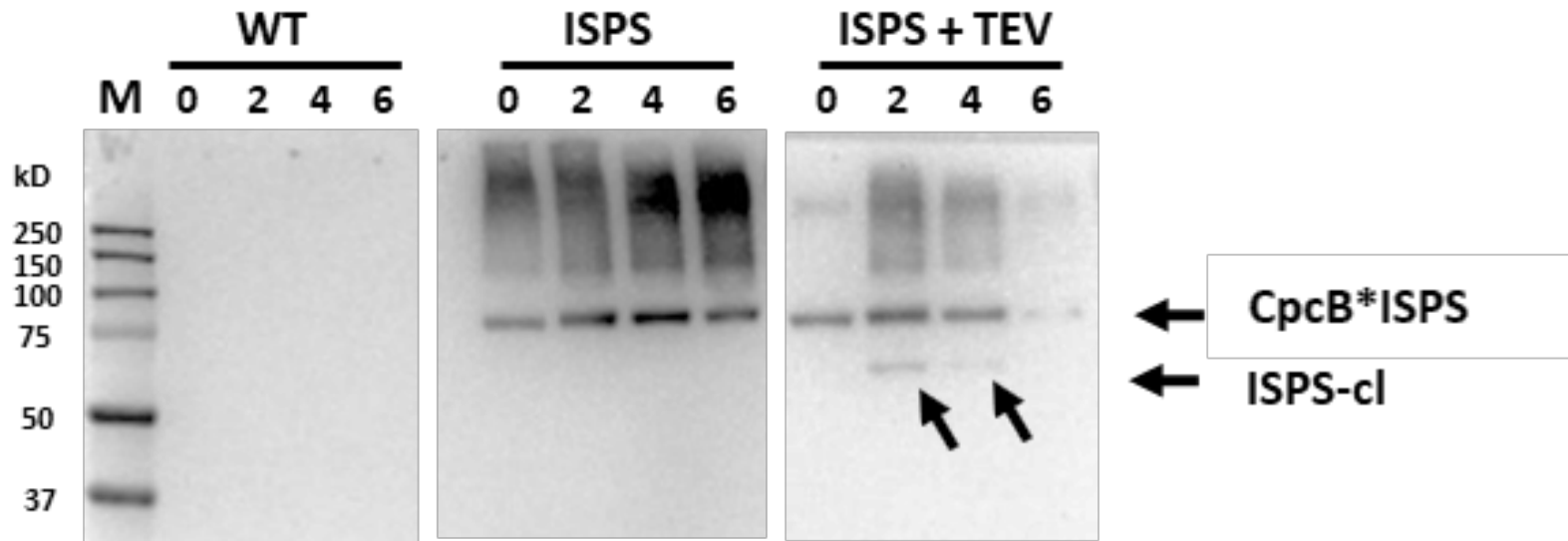
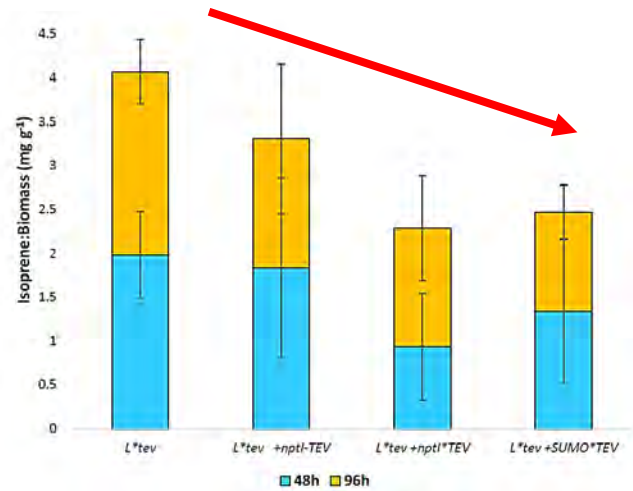
Isopreno
(Isoprene)



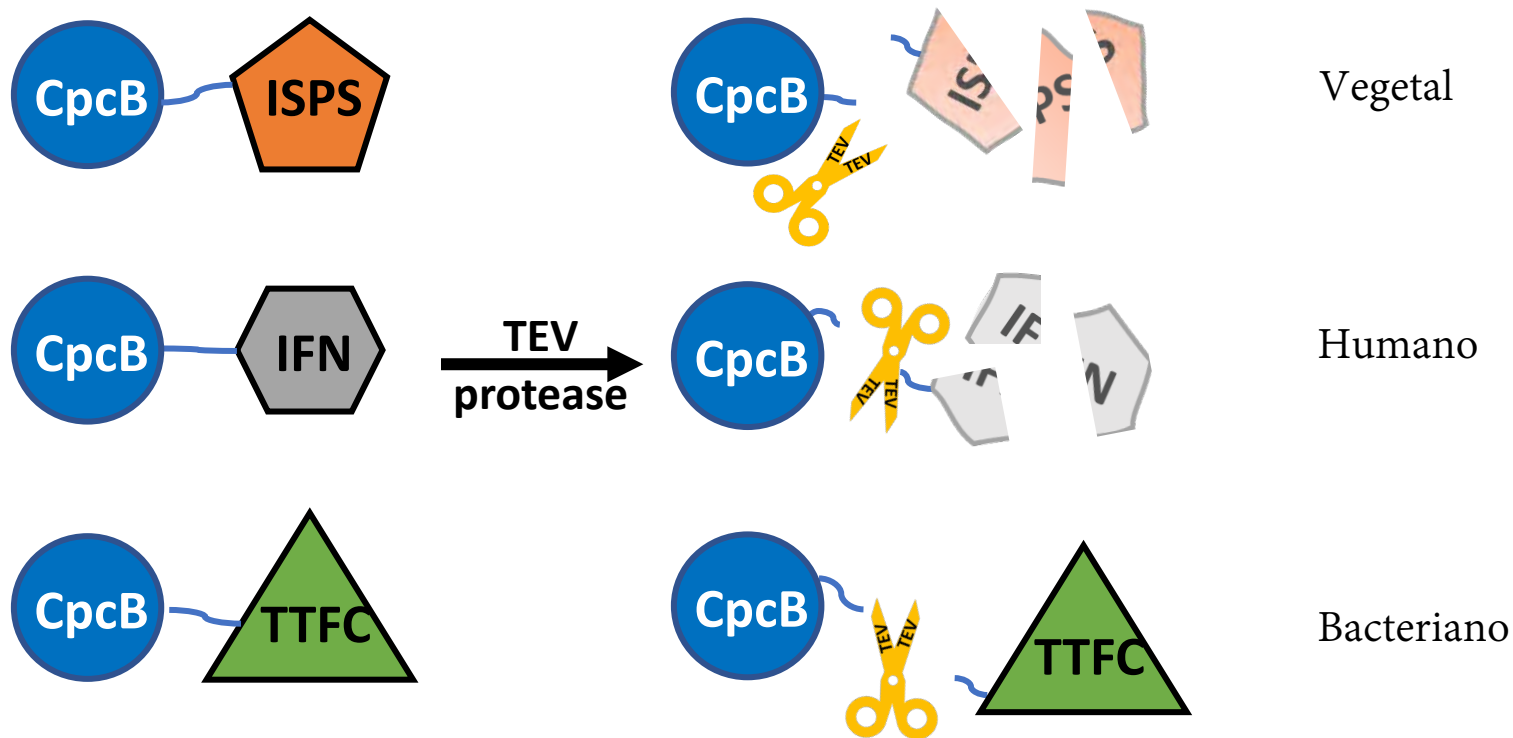
Chavez et al. 2014 DOI: 10.1007/s10811-014-0395-2

Bentley and Melis 2012. DOI 10.1002/bit.23298

“Recombinant protein stability in cyanobacteria”



“Recombinant protein stability in cyanobacteria”



Vírico?

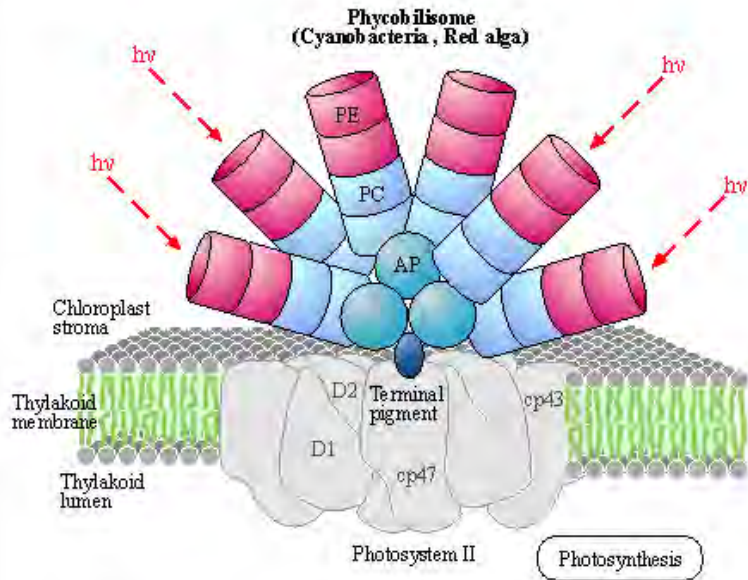
Recombinant Protein Stability in Cyanobacteria

Xianan Zhang,[†] Nico Betterle,[†] Diego Hidalgo Martinez,[†] and Anastasios Melis*

“Understanding and visualizing as a functional complex”

“Understanding and visualizing as a functional complex”

PHOTOSYNTHESIS - ANTENNA PROTEINS



Allophycocyanin (AP)

| | | | | | |
|------|------|------|------|------|------|
| ApcA | ApcB | ApcC | ApcD | ApcE | ApcF |
|------|------|------|------|------|------|

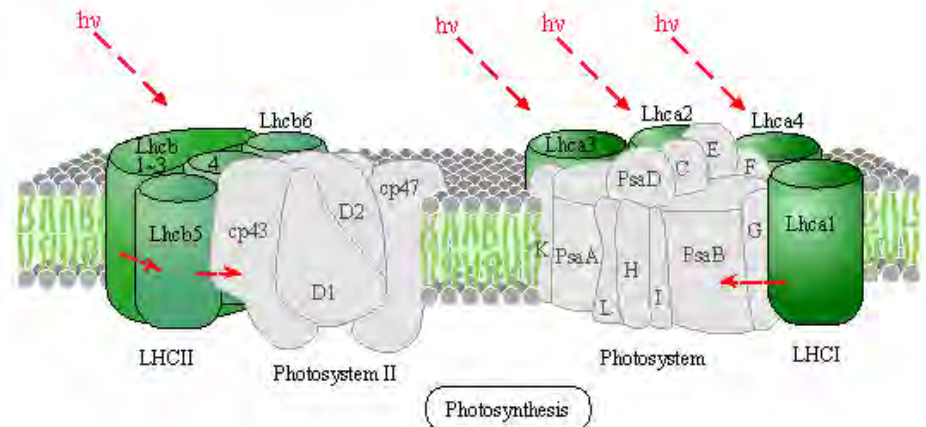
Phycocyanin (PC) / Phycoerythrocyanin (PEC)

| | | | | | | |
|------|------|------|------|------|------|------|
| CpcA | CpcB | CpcC | CpcD | CpcE | CpcF | CpcG |
|------|------|------|------|------|------|------|

Phycocyanin (PE)

| | | | | | | | |
|------|------|------|------|------|------|------|------|
| CpeA | CpeB | CpeC | CpeD | CpeE | CpeR | CpeS | CpeT |
| CpeU | CpeY | CpeZ | | | | | |

Light-harvesting chlorophyll protein complex (Plant, Green alga)



Light-harvesting chlorophyll protein complex (LHC)

| | | | | |
|-------|-------|-------|-------|-------|
| Lhca1 | Lhca2 | Lhca3 | Lhca4 | Lhca5 |
|-------|-------|-------|-------|-------|

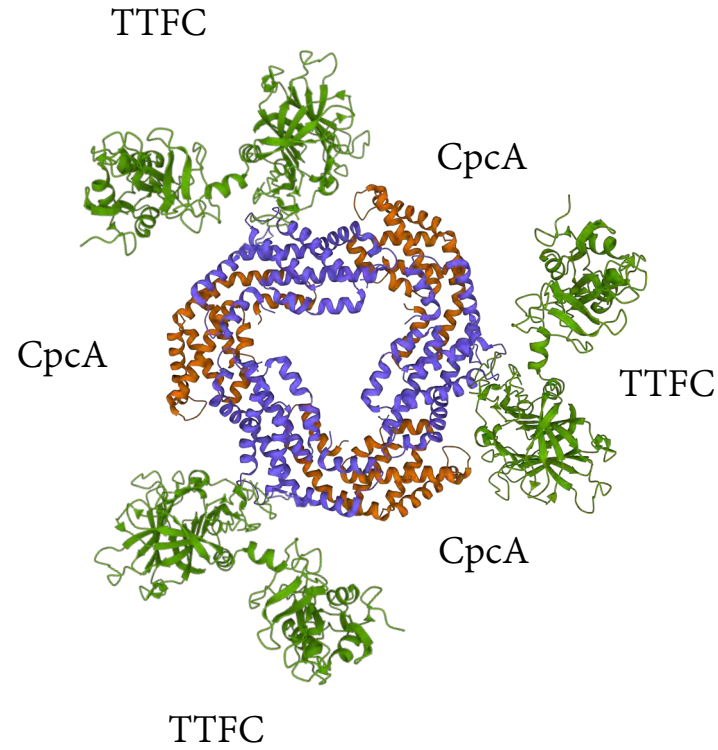
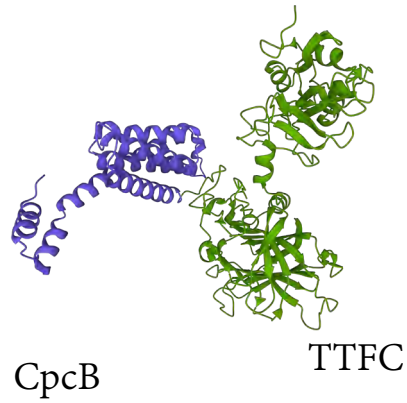
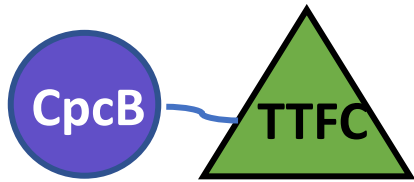
| | | | | | | |
|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| Lhcb1 | Lhcb2 | Lhcb3 | Lhcb4 | Lhcb5 | Lhcb6 | Lhcb7 |
|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|

“Understanding and visualizing as a functional complex”

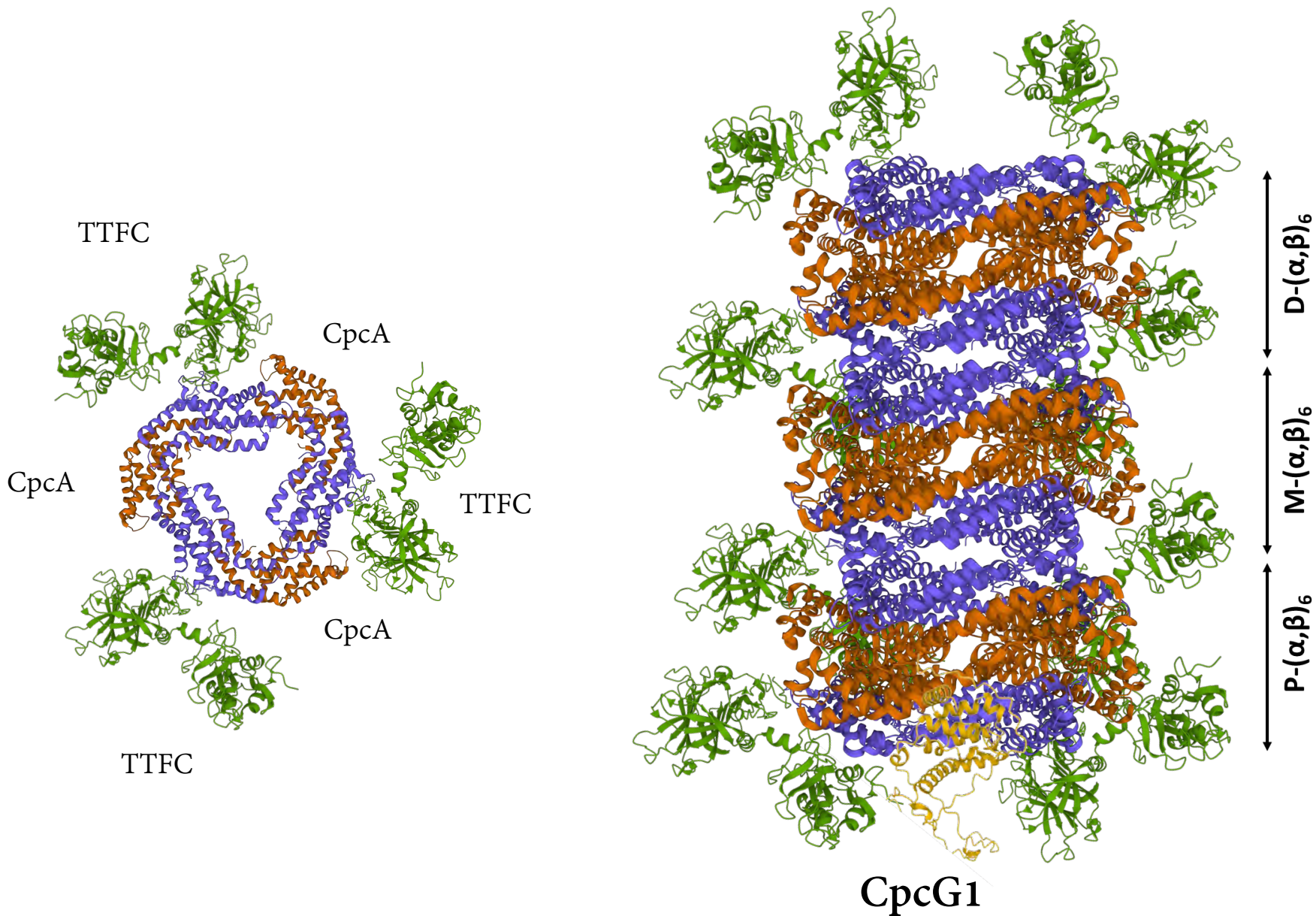
La hipótesis fundamental:

- Para que se lleva a cabo la producción y acumulación de una proteína heteróloga, esta tiene que ser parte de un complejo proteico funcional para la cianobacteria (la antena colectora).

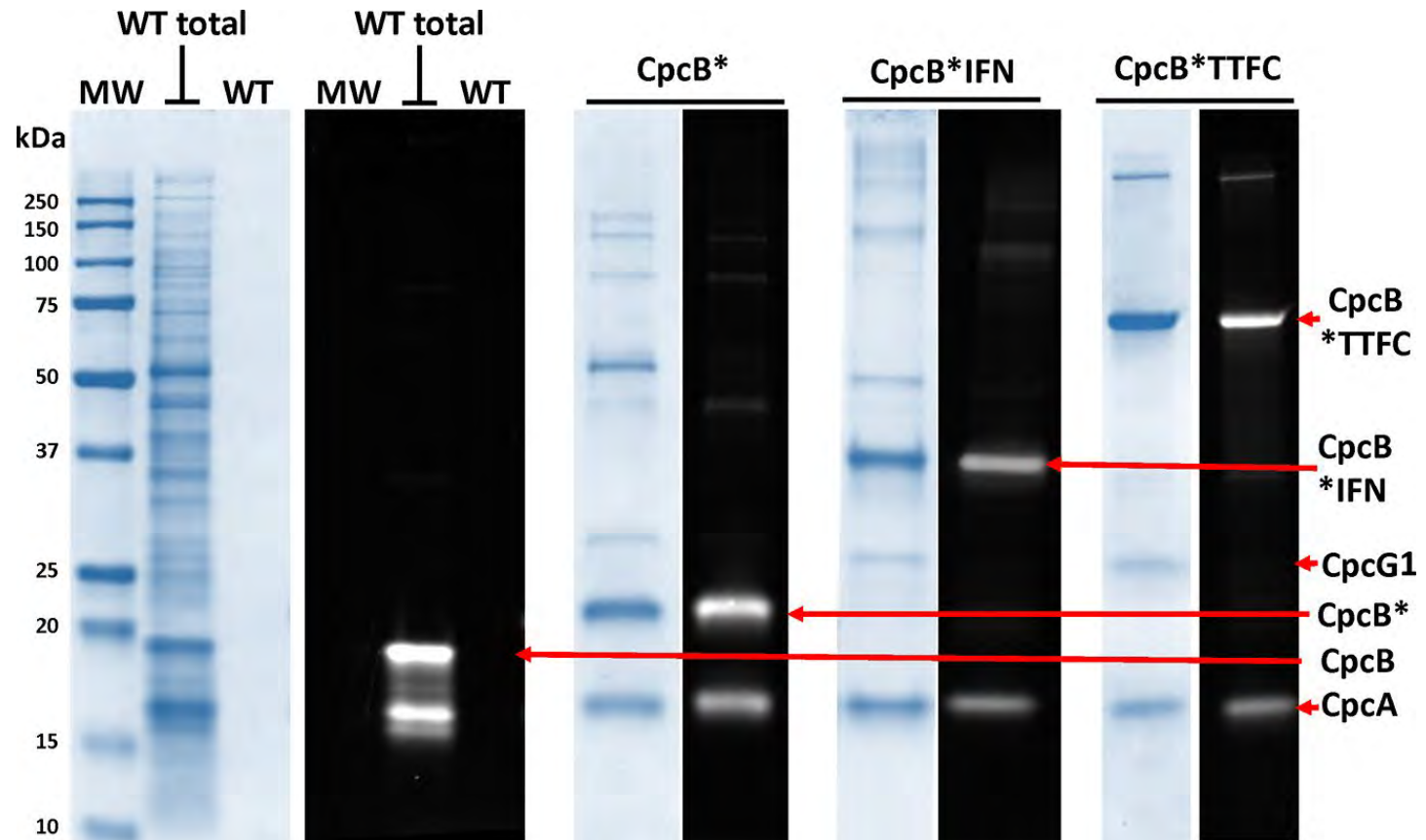
“Understanding and visualizing as a functional complex”



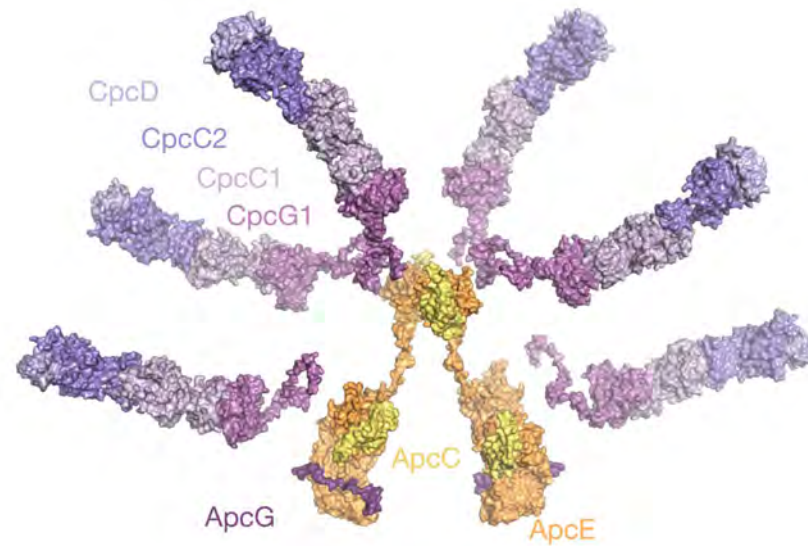
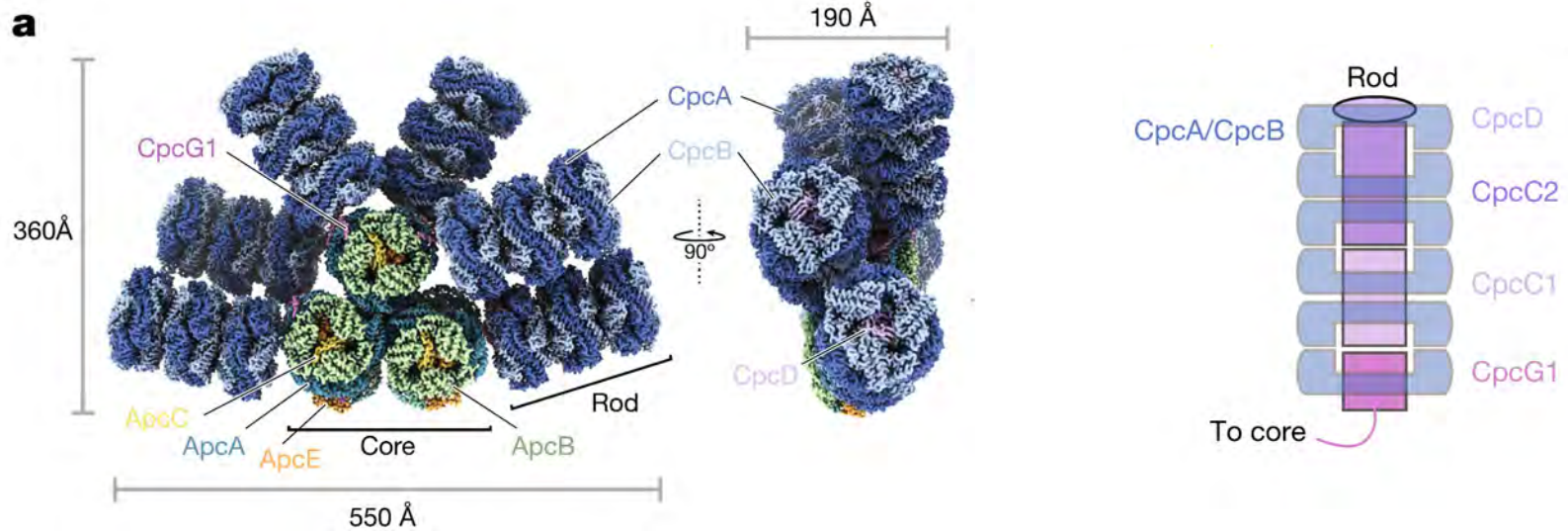
“Understanding and visualizing as a functional complex”



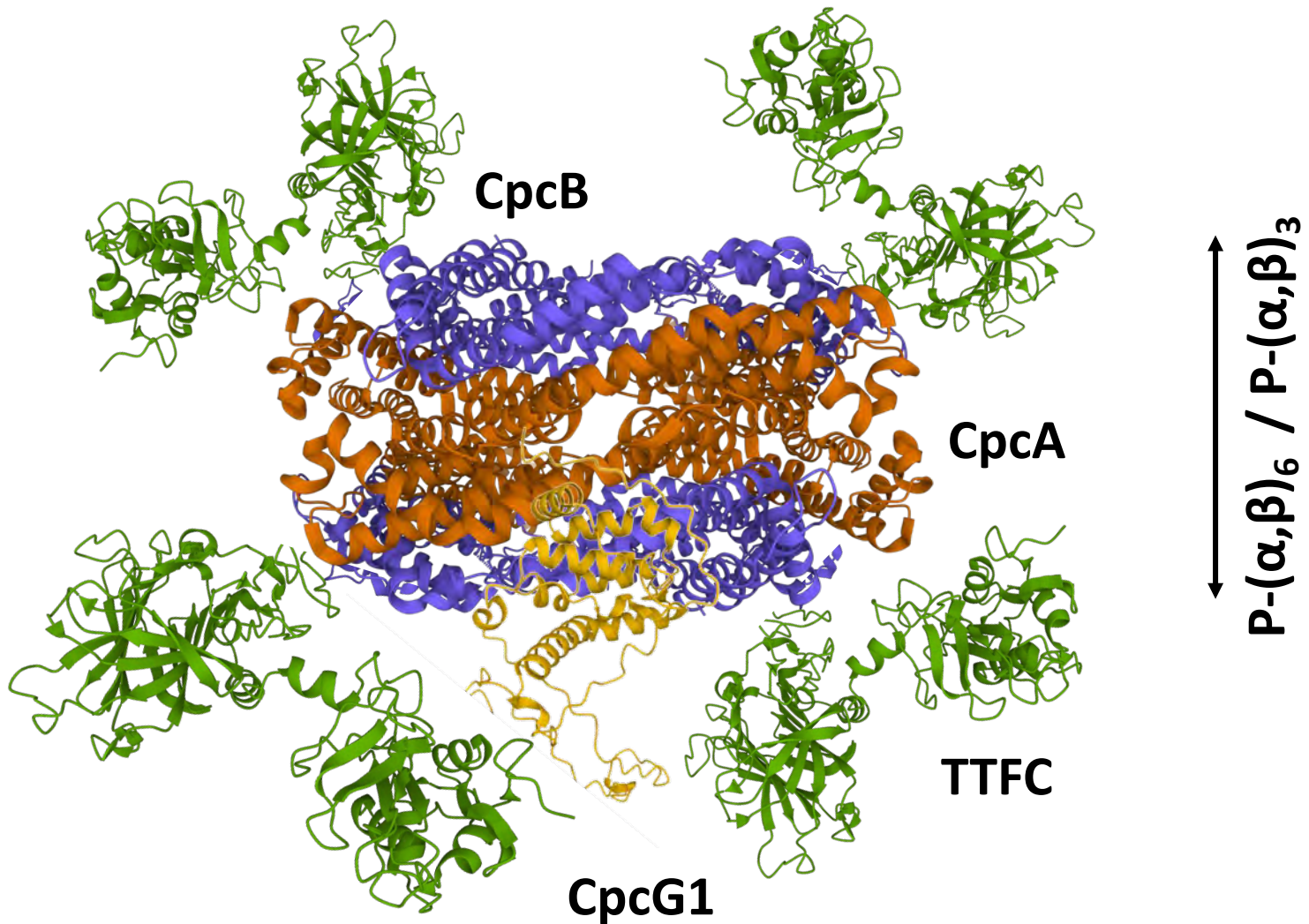
“Understanding and visualizing as a functional complex”



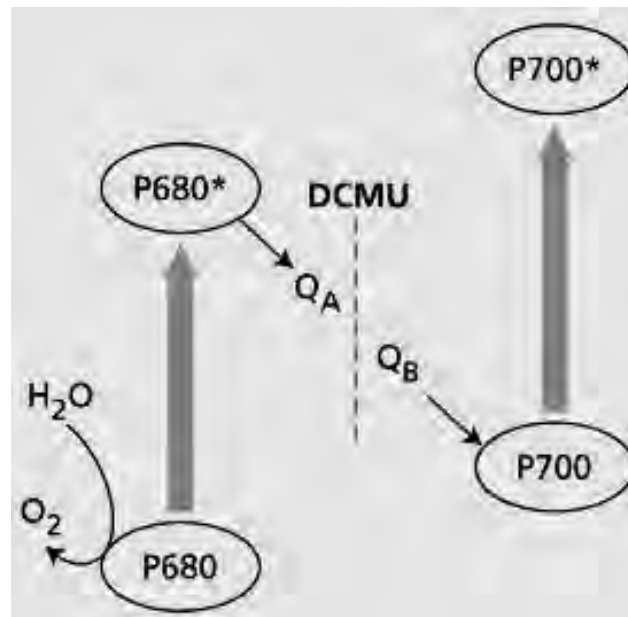
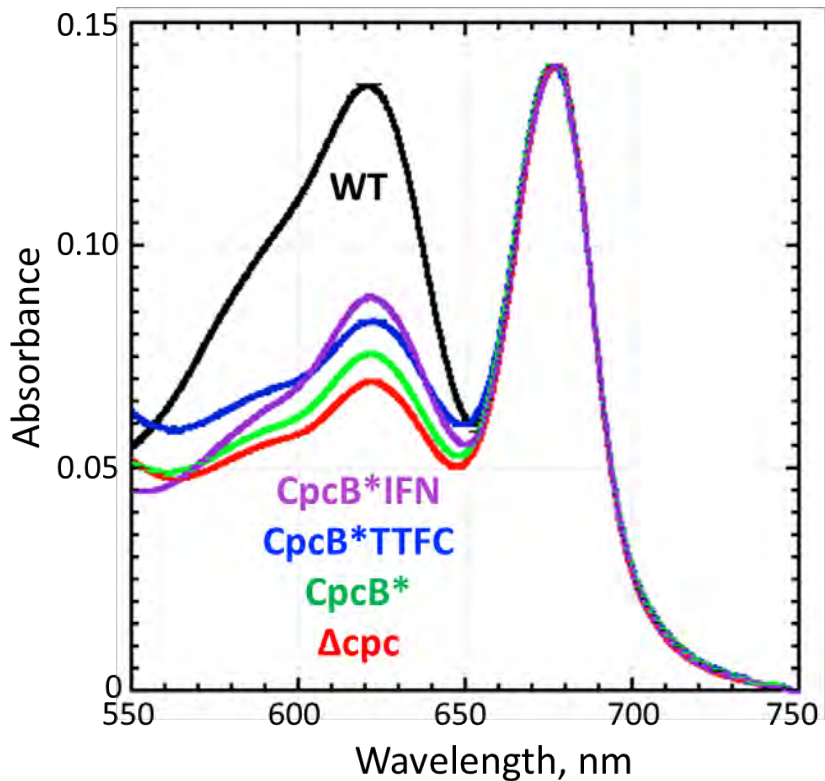
“Understanding and visualizing as a functional complex”



“Understanding and visualizing as a functional complex”



“Understanding and visualizing as a functional complex”



Comentarios finales

- La célula viva posee extraordinarios mecanismos moleculares y bioquímicos para reconocer y eliminar eficazmente las proteínas extrañas, dañadas o desnaturalizadas. Esta función esencial ha sido un de los principales obstáculos para la sobreexpresión de proteínas recombinantes en la mayoría de los sistemas de expresión.
- La participación de una proteína heteróloga en alguna estructura funcional para la célula sería suficiente para estabilizarla y permitir su acumulación.
- Los niveles de expresión genética no son garantía de traducción exitosa, así que de alguna forma hay que verificar la presencia o su actividad enzimática.
- Los organismos fotosintéticos representan una alternativa sostenible para la producción de biofarmacos desde hace varios años, al parecer hay mas obstáculos regulatorios que técnicos para poder explotar sus capacidades.
- La imaginación y la curiosidad. “La imaginación es más importante que el conocimiento”, mientras que la curiosidad es el motor para crear.

Agradecimientos



UNIVERSITAT DE
BARCELONA

Facultat de Farmàcia
i Ciències de l'Alimentació

Berkeley
UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Departament de Biologia, Sanitat i Medi Ambient
Unidad de fisiología vegetal
Dra. Mercedes Bonfill
Dra. Rosa Cusido
Dr. Javier Palazon

Department Plant and Microbial Biology
Dr. Anastasios Melis
Dra. Xianan Zhang
Dr. Nico Betterle