

MONITORAMENTO TECNOLÓGICO RELACIONADO A GENES E PROTEÍNAS DA TEIA DE ARANHAS NO INCREMENTO ESTRUTURAL DE MATERIAIS

Simone Sayuri Tsuneda¹; Luciana Harumi Morimoto Figueiredo¹; Elíbio Leopoldo Leopoldo¹

¹EMBRAPA, Brasília, DF, Brasil. (simone.tsuneda@embrapa.br)

Rec.: 03.07.2014. Ace.: 29.10.2015

RESUMO

Componentes estruturais encontrados na natureza há muito inspiram estudiosos no desenvolvimento de novos produtos. As teias de aranha unem características de grande interesse para as ciências de materiais, o que tem encorajado muitos grupos a buscar protocolos para sua produção heteróloga, além de explorar detalhes de sua estrutura física e molecular. Esse trabalho realizou o monitoramento tecnológico, tanto da produção, quanto da utilização de proteínas de seda de aranha, entre os anos de 2002 e 2013, permitindo traçar um panorama com os principais autores, instituições e países atuantes na área. Os resultados mostraram que tanto a produção do conhecimento como a geração de tecnologias relacionadas a proteínas de seda de aranha são realizadas principalmente pelos Estados Unidos, China, Alemanha e Reino Unido. Também foi possível concluir que a tecnologia e seu modo de produção ainda necessitam de uma série de adaptações para o estabelecimento de produtos viáveis.

Palavras chave: Seda de Aranha. Biomateriais. Produção heteróloga.

ABSTRACT

Nature has long inspired researchers with its structural components and materials. Spider silk assembles the most interesting features for Materials Science, leading many groups in the quest for heterologous host systems for its production, besides exploring its physical and molecular structure. We have performed the technology monitoring for the spider silk proteins production and application, analyzing scientific reports and patents between years of 2002 and 2013, which allowed us to identify the main authors, institutions and countries working in this technical field. The results indicated that most of knowledge and technology generation are concentrated in United States, China, Germany and United Kingdom. It also enabled us to conclude that both, technology and its production, still demand a series of adaptations and further investigation in order to generate viable products.

Keywords: Spider silk. Biomaterials. Heterologous host systems.

INTRODUÇÃO

As características mecânicas da seda de aranha, utilizada há milênios como matéria-prima têxtil, a tornam alvo de grande interesse para o desenvolvimento de novos materiais. No entanto, a grande variação encontrada nas sequências protéicas e estruturas dos fios e teias produzidos pelas diferentes espécies presentes na natureza exige um grande esforço exploratório para melhor entendimento de sua relação com a elasticidade, flexibilidade, força e resistência das fibras. Além disso, por ser uma fibra natural, esse material é biodegradável, o que lhe confere um apelo sustentável em um panorama de uso generalizado de polímeros sintéticos e de busca pela diminuição da produção de resíduos.

Estudos recentes (KIM, 2013; LINTZ; SCHEIBEL, 2013; DICKERSON et al., 2013; FRANDSEN; GHANDERI, 2013; KLUGE et al., 2008), descrevem a aplicação desse material nos mais diversos campos, desde a produção de insumos para aplicação médica e farmacêutica, até o campo da engenharia bélica. Mas, apesar dos avanços biotecnológicos, as tentativas de aplicação desse material continuam sendo prejudicadas pela falta de entendimento básico das nuances moleculares que regem suas desejadas características. Além disso, processos de produção não-naturais ainda não apresentam resultados à altura do que é observado na natureza.

Nesse contexto, a ferramenta de monitoramento tecnológico emerge como potencial aliada ao desenvolvimento de pesquisas inovadoras, oferecendo informações acerca dos avanços tecnológicos no tema, com alcance global. Além disso, esse mecanismo traz a possibilidade de traçar tendências de forma a subsidiar a tomada de decisões, tanto durante o próprio processo de P&D, quanto em instâncias administrativas e negociais.

Considerando esse panorama, este trabalho objetivou traçar um panorama das tecnologias que, por meio de técnicas de biotecnologia, possibilitem o uso de proteínas de teia de aranha para incremento estrutural de biomateriais. A escolha desta tecnologia como primeiro foco de estudo de cenários e monitoramento tecnológico baseou-se na possibilidade de exploração de campos mercadológicos variados e distintos entre si. Outro fator de peso foi a pluralidade de processos biotecnológicos com diferentes organismos que são explorados nessa técnica.

O principal objetivo deste trabalho foi realizar o monitoramento tecnológico de processos biotecnológicos e de tecnologia de materiais para utilização de proteínas da seda de aranhas.

Os objetivos específicos foram de explorar bases de dados científicas, tecnológicas e mercadológicas, através da elaboração de estratégias de busca específicas, de forma a obter informações que, após tratamento dos dados, pudessem oferecer uma visão sobre o estágio de desenvolvimento tecnológico e principais avanços científicos nas áreas de produção heteróloga de seda de aranha, ou seja, utilização de outros organismos ou sistemas biológicos para sua produção, e aplicação desse material nos diferentes ramos industriais.

METODOLOGIA

No intuito de traçar um panorama que pudesse abranger tanto a produção quanto a aplicação de genes e proteínas de seda de aranhas em ciências de materiais, foram abordadas três vertentes de busca: publicações científicas, patentes e mercado.

Para a realização das buscas em bases de artigos científicos e patentes foi elaborada uma estratégia com palavras-chave relacionadas ao tema. As buscas foram realizadas para o período de 2002 a 2013. A Quadro 1 abaixo lista as bases de dados selecionadas para consulta, as respectivas estratégias de busca elaboradas e os códigos de classificação de patentes identificados e utilizados no presente estudo.

Os dados coletados foram tratados e previamente analisados utilizando-se o programa Microsoft Excel. Essa compilação foi encaminhada a um especialista na área para avaliação e observações técnicas.

Quadro 1 - Bases de dados consultadas	
Bases de dados consultadas	
Acadêmicas	<i>Web of Science</i>
	<i>CABI</i>
	<i>Agricola</i>
	<i>Scopus</i>
	<i>Espacenet</i>
Tecnológicas	<i>Derwent</i>
	<i>Compendex</i>
	<i>Inspec / Ovid</i>
Mercadológicas	<i>Market Research</i>

Estratégia utilizada para *Derwent*, *Scopus*, *Espacenet*, *Web of Science*, *CABI* e *Agricola*:

- *Topic=(spider* or arachnid* or araneae) AND Topic=(web* or silk* or gossamer) AND Topic=(fiber or fibrous or material or fabric or polymer*) AND Topic=(gene* or protei* or molecul*)*
- Classificação Internacional de Patentes utilizados nas bases *Derwent* e *Espacenet*: A01H-005/00, A01K-038/16, A01N-063/00, C08H-001/00, C12N-005/10, C12N-015/12, C12N-015/29, C12N-015/82.

No caso da base de dados *Web of Science*, que oferece uma maior variedade de parâmetros, foi possível filtrar os resultados obtidos através da estratégia acima descrita, direcionando ainda mais a busca e poupando um grande trabalho de mineração dos dados. Foi selecionado, no campo *Research Domain* (Domínio de Pesquisa), o tópico “*Science and Technology*”. Já no campo *Research Areas* (Áreas de Pesquisa), foram selecionados os seguintes filtros: Bioquímica, Biologia Molecular, Ciência de Polímeros, Ciência de Materiais, Engenharia, Biotecnologia Aplicada a Microbiologia, Agricultura, Ciências da Vida Biomedicina e outros tópicos, Instrumentos e Instrumentação, Pesquisa em Medicina Experimental, Farmacologia e Farmácia, Medicina Interna Geral, Robótica e Cirurgia.

Já para as bases *Derwent* e *Espacenet* as buscas utilizaram tanto palavras-chave, quanto códigos de classificação internacional.

Estratégia utilizada para a base *Inspec*:

- *(spider* or arachnid* or araneae) and (web* or silk* or gossamer) and (fiber or fibrous or material or fabric or polymer*)*

A estratégia para essa base foi adaptada para um foco mais industrial, na tentativa de melhor explorar as informações fornecidas pelo *Inspec*.

Estratégia utilizada para Market Research:

- “*Spidersilk*”

Como foi observado que o tema ainda é incipiente e as atividades ainda concentram-se em P&D, pôde-se utilizar uma estratégia mais abrangente para essa base de dados com foco mercadológico.

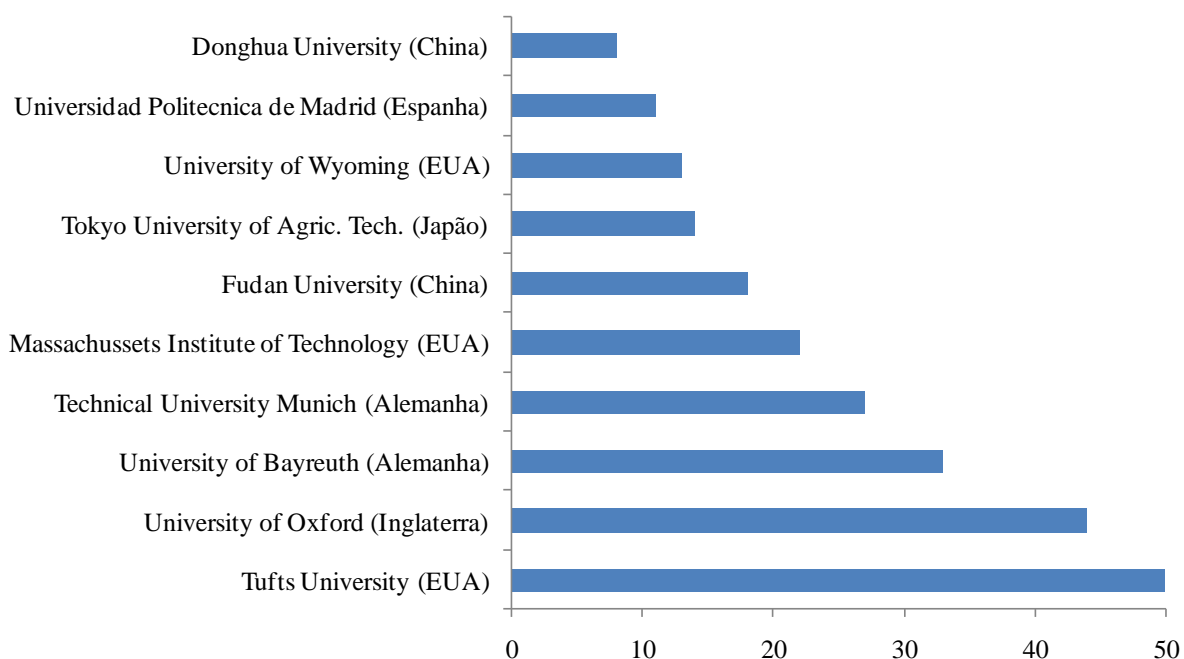
RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para análise de artigos científicos foram consultadas as bases *Web of Science*, *Scopus*, *Agricola* e *CABI*. Os gráficos a seguir apresentam uma avaliação e compilação dos dados obtidos nessas três fontes. A Figura 1 apresenta as dez principais instituições que abrigam autores com maior número de publicações na área nas três fontes consultadas.

A Figura 2 destaca os principais autores de publicações em revistas indexadas e o respectivo número de artigos identificados no referido período.

Os dados obtidos mostraram que os principais geradores de conhecimento são universidades, com destaque para a Tufts University (EUA) e a Universidade de Oxford (Inglaterra). Dentro desse panorama, como se observa na Figura 2, o autor com maior número de publicações na área é David L. Kaplan, que atua na Tufts University com foco em pesquisa com engenharia de biopolímeros, seguido por Fritz Vollrath, pesquisador que está vinculado à Universidade de Oxford e cujo foco de pesquisa abrange estudos de diversidade, ecologia e evolução de aranhas e suas teias, corroborando os resultados expostos no gráfico anterior.

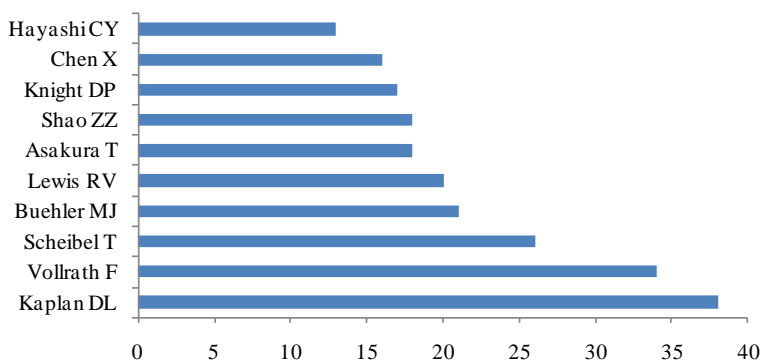
Figura 1 - As 10 instituições com maior número de publicações na área de 2002 a 2013



Fonte: Autoria própria, 2015.

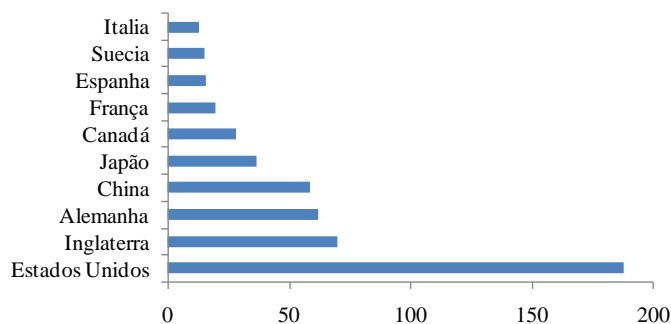
Já as Figuras 3 e 4 apresentam a lista com os dez países que se destacaram no período por sediar instituições com publicações na área. Para essa análise, a sede das 100 instituições com maior número de publicações foi consultada para elaboração do gráfico abaixo. É possível observar que os EUA se destacam em produção científica na área, seguido por Inglaterra, Alemanha e China.

Figura 2 - Relação dos principais autores com maior número de publicações na área, de 2002 a 2013



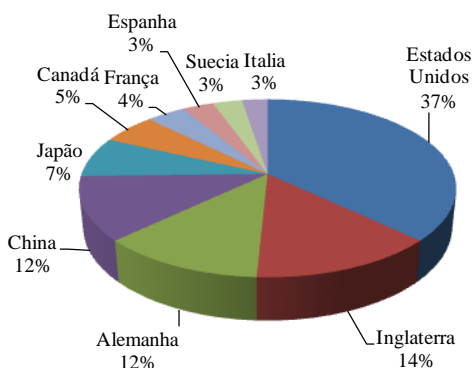
Fonte: Autoria própria, 2015.

Figura 3 - Os dez países cujas instituições mais publicaram na área, de 2002 a 2013



Fonte: Autoria própria, 2015.

Figura 4. Comparação da participação dos países que mais publicaram no período de 2002 a 2013



Fonte: Autoria própria, 2015.

Dentre os artigos identificados, a grande maioria trata de caracterização das fibras de seda através de técnicas de nanotecnologia e microscopia, medindo sua elasticidade, resistência e habilidade adesiva. Há também muitos estudos de avaliação das fibras ou das moléculas isoladas, sob diversas condições, como umidade, calor, pressão ou diferentes etapas de processamento junto a outros materiais, dependendo da aplicação visada (FRATZL; BARTH, 2009; PORTER et al., 2013).

Até o ano de 2006, protocolos que descreviam a síntese das proteínas *in vivo* ainda eram escassos, já que os estudiosos relatavam muita dificuldade em alcançar uma boa qualidade das fibras produzidas, sendo que a maioria da bioengenharia fazia uso de bactérias como organismos base (FOO; KAPLAN, 2002; LAZARIS et al., 2002; SCHELLER et al., 2001).

Só a partir de 2007 observa-se um grande número de trabalhos com moléculas recombinantes com diferentes características, o que possibilita a evolução das técnicas biotecnológicas para o uso de organismos geneticamente modificados mais complexos, como vegetais (CHUNG; KIM; LEE, 2009; HARDY; SCHEIBEL, 2009; RABOTYAGOVA; CEBE; KAPLAN, 2009; TEULE et al., 2007).

Há um grande interesse no uso dessas fibras na área de materiais para aplicação médica e farmacêutica, além da própria ciência de engenharia de materiais, já esperada no início destas buscas. A maior parte das publicações analisadas no presente estudo mostra que o material da teia de aranha é testado para produção de próteses e para o nanoencapsulamento de medicamentos, além das aplicações em polímeros em busca de maior resistência (FLORES; FRISWELL; XIA, 2012; FRANSEN; GHANDEHARI, 2012).

Analisando as publicações, fica clara a rápida evolução da ciência de biomateriais e bioengenharia nos últimos dez anos. As expectativas da indústria têxtil e bélica são grandes e várias publicações e revisões de mercado evidenciam a busca por fibras e materiais funcionais e mais leves, para aplicação tanto na área bélica, quanto de esportes e médica. Estudos para o desenvolvimento de próteses e suturas têm avançado mais rapidamente e impulsionam as pesquisas no setor (KLUGE et al., 2008; HARDY; ROMER; SCHEIBEL, 2008; HARDY; SCHEIBEL, 2010).

Deve-se considerar também que, pesquisas na área bélica não costumam ser divulgadas e as informações, nesse caso, é mais escassas, daí a observância de domínio de pesquisas médicas e farmacêuticas.

Para a análise de patentes foram realizadas análises nos bancos de patentes *Derwent e Espacenet*, nos quais foram identificados 868 e 82 documentos, respectivamente. Dados de ambas bases foram analisados conjuntamente.

A Figura 5 apresenta as dez instituições, públicas e privadas, com maior número de patentes depositadas no período de 2002 a 2013. É importante salientar que a partir de 2011, muitos documentos de patente encontravam-se em período de sigilo no momento do estudo, o que pode ter influenciado no resultado apresentado.

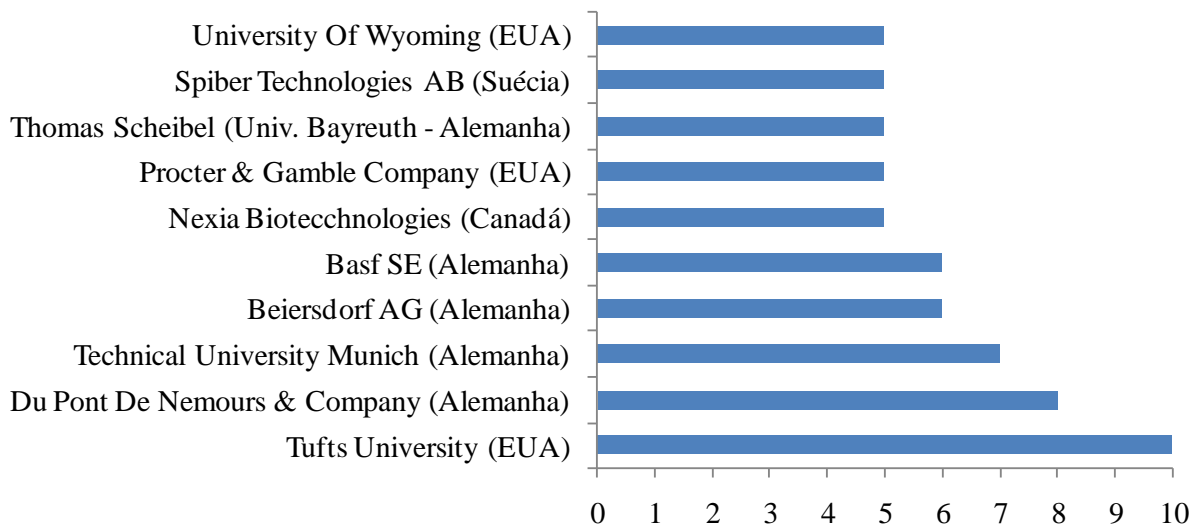
Já a Figura 6 lista os dez principais inventores identificados na análise de documentos de patentes na área de utilização de proteínas da seda de aranha para processos biotecnológicos e tecnologia de materiais. Observa-se um equilíbrio na produção entre os profissionais listados, com exceção de Kaplan, DL.

Observa-se que a Tufts University, através do pesquisador e professor David L. Kaplan, atua tanto na produção de conhecimento relacionado à produção da proteína da teia de aranha quanto na geração de tecnologias relacionadas ao tema.

No intuito de traçar um mapa da produção tecnológica na área, analisou-se o país de origem das 100 instituições com maior número de depósitos listados nas bases de dados. Tais informações, quando não constavam na própria denominação de titularidade, foram obtidas nas páginas eletrônicas de

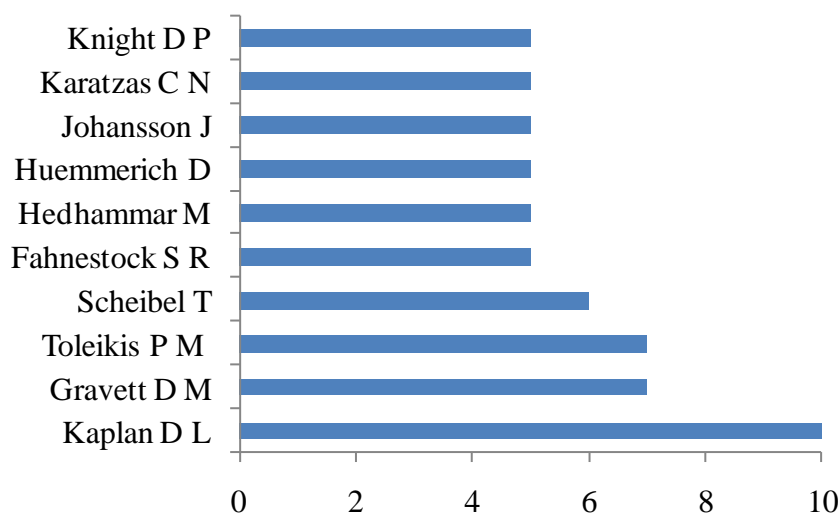
cada instituição. O resultado desta análise encontra-se nas Figuras 7 e 8. A participação marcante dos EUA e da Alemanha está bem salientada em ambas as Figuras, o que os aponta como grandes centros de desenvolvimento de biomateriais, mesmo que não usufruam da diversidade biológica de países tropicais.

Figura 5 - Maiores instituições depositantes de patentes entre 2002 e 2013



Fonte: Autoria própria, 2015.

Figura 6 - Principais inventores na área entre 2002 e 2013 e o número de patentes depositadas no período

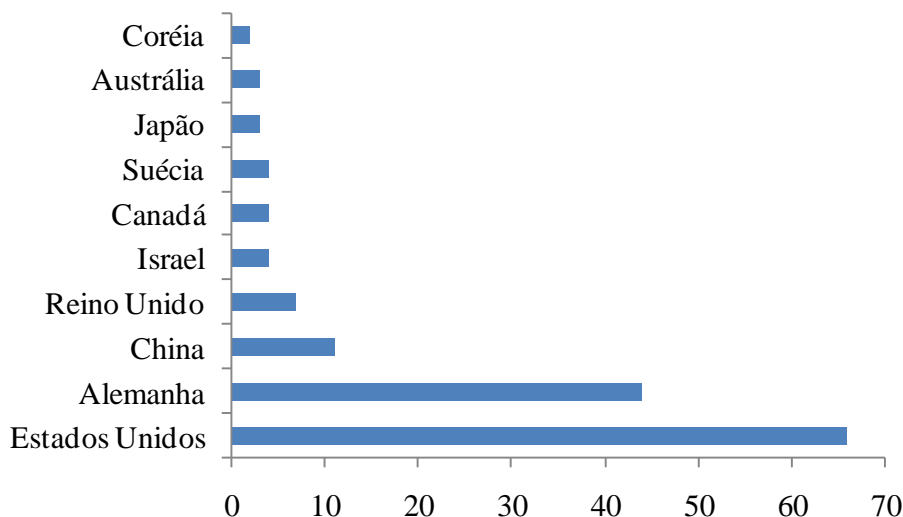


Fonte: Autoria própria, 2015.

Com relação à área dos documentos de patente depositados (análise baseada na classificação internacional de patentes – CIP), apesar da constância no depósito de documentos de patente relacionados com ácidos nucleicos (C07H e C07K), percebe-se um aumento na quantidade de invenções relacionadas à área têxtil (D01 e D03) e à área médica e odontológica (A61), ou seja,

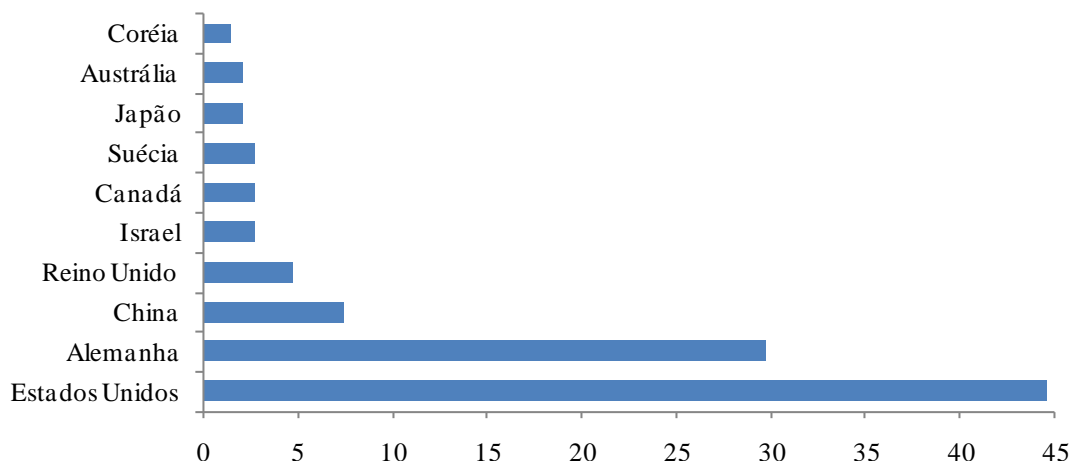
fibras para uso estrutural. Esse é um forte indicativo da evolução das pesquisas na área e do foco comercial e industrial que tais estudos têm tido. Ainda são poucas as patentes relacionadas a materiais bélicos ou metais utilizando-se proteínas da teia de aranha.

Figura 7 - Os 10 países que sediam instituições com o maior número de patentes



Fonte: Autoria própria, 2015.

Figura 8 - Participação de maiores países depositantes de patentes no período de 2002 a 2013.



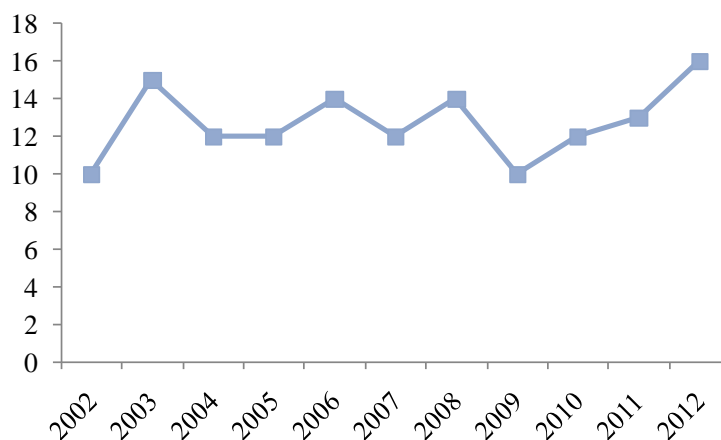
Fonte: Autoria própria, 2015.

Deve-se observar que esse mercado é mais restrito e, muitas vezes, o sigilo de dados e informações é estratégia vigente nas instituições, o que pode induzir a um resultado menos expressivo. Esse panorama, no entanto, não significa necessariamente menos esforços ou investimentos sendo aplicados.

Dentre os depositantes, ainda destacam-se instituições acadêmicas, principalmente dos EUA. Esse quesito pode estar ligado ao estágio embrionário da tecnologia e é possível que, nos próximos anos, seja observado um crescimento da participação empresarial e industrial nesse cenário.

A Figura 9 mostra a evolução no número de depósitos de patente no período.

Figura 9 - Evolução no número de depósitos de patente no período



Fonte: Autoria própria, 2015.

Outro fato interessante é a abrangência das bases de dados *Web of Science* e *Derwent*, que oferecem resultados mais completos. As demais bases, devido à especificidade, como é o caso da *Compendex* e da *CABI*, são muito úteis quando utilizadas como fontes complementares de informação. No caso da tecnologia em questão, as bases de artigos científicos e patentes tornam-se ainda mais essenciais devido ao estágio de desenvolvimento incipiente no qual a técnica se encontra. A falta de informações de estudos mercadológicos em bases especializadas corrobora esse cenário, o que acaba resultando numa maior força dos resultados obtidos de artigos científicos e patentes.

Os dados obtidos na busca de patentes vão ao encontro dos resultados nas buscas de artigos e publicações científicas, com um grande destaque para instituições estadunidenses e alemãs, além de um crescimento do papel da China no desenvolvimento e avaliação de técnicas e biomateriais. Grande parte dos inventores de destaque também figura entre os autores com maior quantidade de publicação de artigos, refletindo o caráter empreendedor das instituições acadêmicas no exterior. No caso do Brasil, a única instituição identificada é a Embrapa, que acaba competindo com centros de pesquisa e universidades estrangeiras com maior disponibilidade de recursos financeiros e infraestrutura.

Um fator indicativo do estágio de desenvolvimento incipiente da tecnologia é a grande participação de instituições acadêmicas dentre os detentores de patentes e autores de artigos, pois a iniciativa privada tende a investir no desenvolvimento de tecnologias cuja potencialidade do produto ou processo já estejam estabelecidas ou, ao menos, sinalizadas. Daí também a dificuldade de encontrar dados de mercado para essa área de atuação.

Considerando que grandes empresas e conglomerados como a *BASF* e a *DuPont* estão entre as maiores detentoras de patentes na área, presume-se, pelo investimento na tecnologia, que o mercado tem grande potencial.

Apesar da busca em fontes relacionadas a mercado ter sido abrangente, não foi possível a obtenção de nenhum resultado expressivo. O foco das buscas foi o uso de moléculas isoladas da natureza ou relacionadas a substâncias naturais, para aperfeiçoamento de materiais em diferentes áreas da indústria, como listado na Quadro 2.

Acredita-se que essa falta de dados é explicada pelo fato das tecnologias que envolvem proteínas de seda de aranha ainda estarem em fase de desenvolvimento e não foi identificado nenhum produto finalizado. Também, deve-se mencionar que algumas das abordagens vislumbradas para a seda de aranha como biomaterial são em setores estratégicos, como o de tecnologias bélicas, sendo inerente a tais setores a adoção do sigilo sobre o desenvolvimento de novos produtos.

Quadro 2 - Lista de aplicações industriais vislumbradas nessa análise	
Área de desenvolvimento / Indústria	Possibilidade de aplicação
Têxtil	Melhoria de propriedades mecânicas de fibras em geral
	Associação com fibras sintéticas para diminuir eletricidade estática
	Associação com fibras sintéticas para melhorar capacidade de absorção de água
	Propriedade antisséptica em fibras
Médica farmacêutica	Produção de material para suturas devido à biocompatibilidade e baixa imunogenicidade
	Produção de vestimentas antissépticas
	Substituir colágeno e proteoglicanos como matriz extracelular natural
	Produção de biofilmes para implantes e outras aplicações
	Drugdelivery
Engenharia de materiais e bélica	Biossensores
	Associação com polímeros e metais para obtenção de materiais de menor densidade
	Bioadesivos

Fonte: Autoria própria, 2015.

CONCLUSÕES

Os Estados Unidos se destacam na produção acadêmica e tecnológica nas áreas analisadas, com grande participação, tanto na publicação de artigos, quanto no depósito de patentes. Em seguida, destacam-se Alemanha, China e Reino Unido, com visível ascensão da China nos últimos anos, em termos de produção tecnológica.

Estudos de caracterização e de produção heteróloga de proteínas e da própria seda de aranha avançaram visivelmente nos últimos dez anos e, apesar de não ter sido identificada nenhuma aplicação concreta do material, o conhecimento acerca de suas qualidades mecânicas tem sido vastamente explorado e os estudos biotecnológicos para aplicação desse material têm crescido expressivamente, caminhando para um mercado promissor e plural. Em decorrência desse fato, espera-se que seja possível realizar análises mercadológicas ricas, fundamentadas e bem estruturadas em poucos anos.

Também fica clara a importância de se adotar uma visão abrangente na realização de monitoramento tecnológico, consultando a maior quantidade e variedade de fontes possível num primeiro momento, para obtenção de um panorama mais completo da área pesquisada.

REFERÊNCIAS

CHUNG, H.; KIM, T. Y.; LEE, S. Y. Recent advances in production of recombinant spider silk proteins. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 23, n. 6, p. 957-964, 2009.

DICKERSON, M. B.; FILLERY, S. P.; KOERNER, H.; SINGH, K. M.; MARTINICK, K.; DRUMMY, L. F.; DURSTOCK, M. F.; VAIA, R. A.; OMENETTO, F. G.; KAPLAN, D. L.; NAIK, R. R. Dielectric breakdown strength of regenerated silk fibroin films as a function of protein conformation. **Biomacromolecules**, v. 14, n. 10, p. 3509-3514, 2013.

FLORES, E. I. S.; FRISWELL, M. I.; XIA, Y. Variable stiffness biological and bio-inspired materials. **Journal of Intelligent Material Systems and Structures**. v. 24, p. 529-540, 2012.

FOO, C. W. P.; KAPLAN, D. L. Genetic engineering of fibrous proteins: spider dragline silk and collagen. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 54, n. 8, p. 1131-1143, 2002.

FRANDBSEN, J. L.; GHANDEHARI, H. Recombinant protein-based polymers for advanced drug delivery. **Chemical Society Reviews**, v. 41, n. 7, p. 2696-706, 2013.

FRATZL, P.; BARTH, F. G. Biomaterial systems for mechanosensing and actuation. **Nature**, v. 462, p. 442-448. 2009.

HARDY, J. G.; ROMER, L. M.; SCHEIBEL, T. R. Polymeric materials based on silk proteins. **Polymer**, v. 49, p. 4309-4327, 2008.

HARDY, J. G.; SCHEIBEL, T. R. Composite materials based on silk proteins. **Progress in Polymer Science**, v.35, p. 1093-1115, 2010.

HARDY, J. G.; SCHEIBEL, T. R. Production and Processing of Spider Silk Proteins. **Journal of Polymer Science part A**, v. 47, n. 16, p. 3957-3963, 2009.

KIM, W. Recombinant protein polymers in biomaterials. **Frontiers in Bioscience**, v. 18, p. 289-304, 2013.

KLUGE, J.; RABOTYAGOVA, O.; LEISK, G. G.; KAPLAN, D. L. Spider silks and their applications. **Trends Biotechnology**, v. 26, n. 5, p. 244-251, 2008.

LAZARIS, A.; ARCIDIACONO, S.; HUANG, Y.; ZHOU, J. F.; DUGUAY, F.; CHRETIEN, N.; WELSH, E. A.; SOARES, J. W.; KARATZAS, C. N. Spider Silk Fibers Spun from Soluble Recombinant Silk Produced in Mammalian Cells. **Science**, p. 472-476, 2002.

LINTZ, E. S.; SCHEIBEL, T. R. Dragline, Egg Stalk and Byssus: A Comparison of Outstanding Protein Fibers and Their Potential for Developing New Materials. **Advanced Functional Material**, v. 23, n. 36, p. 4467-4482, 2013.

PORTER, D.; GUAN, J.; VOLLRATH, F. Spider Silk: Super Material or Thin Fibre? **Advanced Materials**, v. 25, n. 9, p. 1275-1279, 2013.

Simone Sayuri TSUNEDA et al. Monitoramento tecnológico relacionado a genes e proteínas da teia de aranhas no incremento estrutural de materiais

RABOTYAGOVA, O. S.; CEBE, P.; KAPLAN, D. L. Self-Assembly of Genetically Engineered Spider Silk Block Copolymers. *Biomacromolecules*, v. 10, n. 2, p. 229–236, 2010.

SCHELLER, J.; GÜHRS, K.; GROSSE, F.; CONRAD, U. Production of spider silk proteins in tobacco and potato. *Nature Biotechnology*, v.19, p. 573-577, 2001.

TEULE, F.; FURIN, W. A.; COOPER, A. R.; DUNCAN, J. R.; LEWIS, R. V. Modifications of spider silk sequences in an attempt to control the mechanical properties of the synthetic fibers. *Journal of Material Science*, v.42, n. 21, p. 8974-8985, 2007.