Genética na Escola – ISSN: 1980-3540

Os genes das AFGPs: a genética da adaptação ao gelo



Lucas Camilo Moraes Alves

Bacharel em Ciências Biológicas, Mestrando em Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Goiás

Autor para correspondência - lucascamilo2000@gmail.com

Palavras-chave: AGFP, proteínas anticongelantes, convergência evolutiva, adaptação ao frio

Genética na Escola – ISSN: 1980-3540

As glicoproteínas anticongelantes (AFGPs, do inglês *Antifreeze Glycoproteins*) são glicoproteínas produzidas por peixes polares que vivem em ambientes muito frios, como as águas do Ártico e da Antártida, onde as temperaturas chegam a -1,9 °C. Essas proteínas impedem que os tecidos e os líquidos dos peixes congelem, pois bloqueiam o crescimento de cristais de gelo dentro dos tecidos. Os genes que codificam as AFGPs surgiram de forma independente em dois grupos de peixes: nos *Notothenioidei* da Antártida, a partir de um gene ancestral relacionado à digestão, e nos *Gadidae* do Ártico, por um processo de origem gênica sem um gene ancestral óbvio. Essas moléculas são compostas por múltiplas repetições do tripeptídeo (Ala-Ala-Thr) e, após clivagem de uma poliproteína precursora em sítios específicos, originam diferentes variantes peptídicas com distintos tamanhos e níveis de atividade anticongelantes. Essenciais para a sobrevivência dos peixes polares, essas proteínas também têm grande potencial em áreas como a criopreservação de células e órgãos, conservação de alimentos e desenvolvimento de biomateriais.

AFGPs: uma solução genética contra o congelamento em peixes polares

Em alguns dos ambientes mais inóspitos do planeta, como as águas geladas da Antártida e do Ártico, onde as temperaturas podem atingir até -1,9°C, a vida encontrou soluções impressionantes para sobreviver. Uma dessas soluções são moléculas que estão diretamente ligadas à genética: as *Antifreeze Glycoproteins* (AFGPs), ou glicoproteínas anticongelantes, que impedem que os peixes literalmente congelem de dentro para fora (Figura 1).

Essas proteínas representam um exemplo clássico de inovação, adaptação e **convergência evolutiva**, surgindo de maneiras distintas em diferentes grupos de peixes, mas desempenhando a mesma função essencial: permitir a sobrevivência em águas com temperaturas abaixo de zero.

Convergência evolutiva - situação na qual diferentes espécies, que não possuem um ancestral comum recente, desenvolvem independentemente características ou soluções semelhantes para um mesmo desafio ambiental.

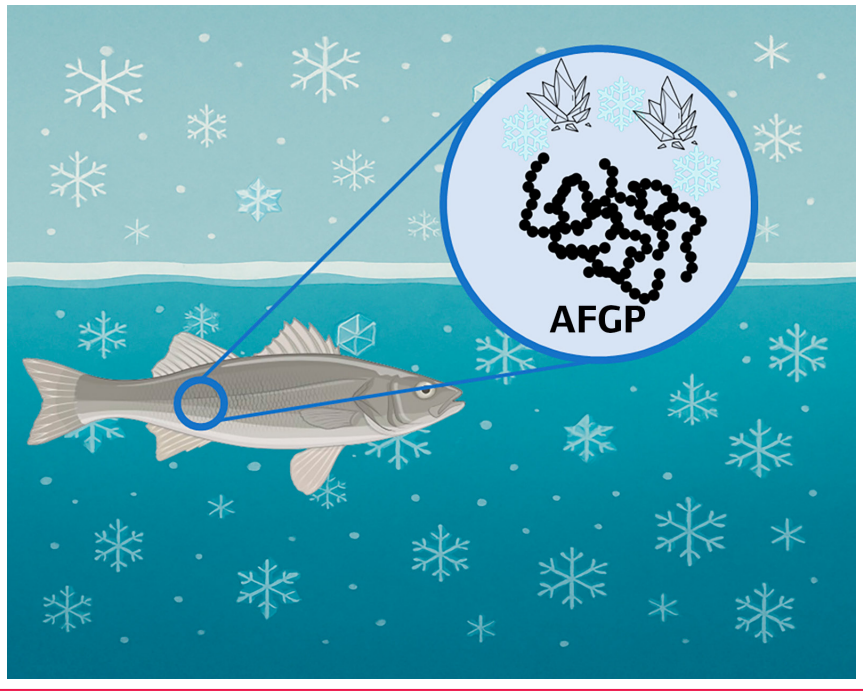


Figura 1.
Proteínas AFGPs em peixes de águas subzero.

Genética na Escola – ISSN: 1980-3540

O desafio biológico: como evitar virar gelo?

Os peixes marinhos que habitam as águas geladas do Ártico e da Antártida enfrentam um desafio possivelmente letal: enquanto seus fluidos corporais congelam a aproximadamente -0,6 °C, a água do mar permanece líquida até -1,9 °C. Sem adaptações específicas, esses animais estariam condenados a morrerem congelados. Diferente de alguns anfíbios e répteis que toleram parcialmente a formação de gelo nos tecidos, os peixes não suportam a cristalização interna, pois a formação de um único cristal de gelo pode ser suficiente para causar danos em diversas células e vasos sanguíneos, levando à morte.

Para sobreviver nesse ambiente hostil, as espécies polares desenvolveram mecanismos bioquímicos altamente especializados capazes de inibir tanto a formação inicial quanto o crescimento dos cristais de gelo. Entre essas adaptações, destacam-se as AFGPs, glicoproteínas presentes no soro sanguíneo de diversos peixes polares (Figura 2). As AFGPs impedem a formação de gelo no interior do organismo, permitindo a sobrevivência mesmo sob temperaturas que, teoricamente, estariam abaixo do ponto de congelamento dos fluidos corporais (Figura 3).

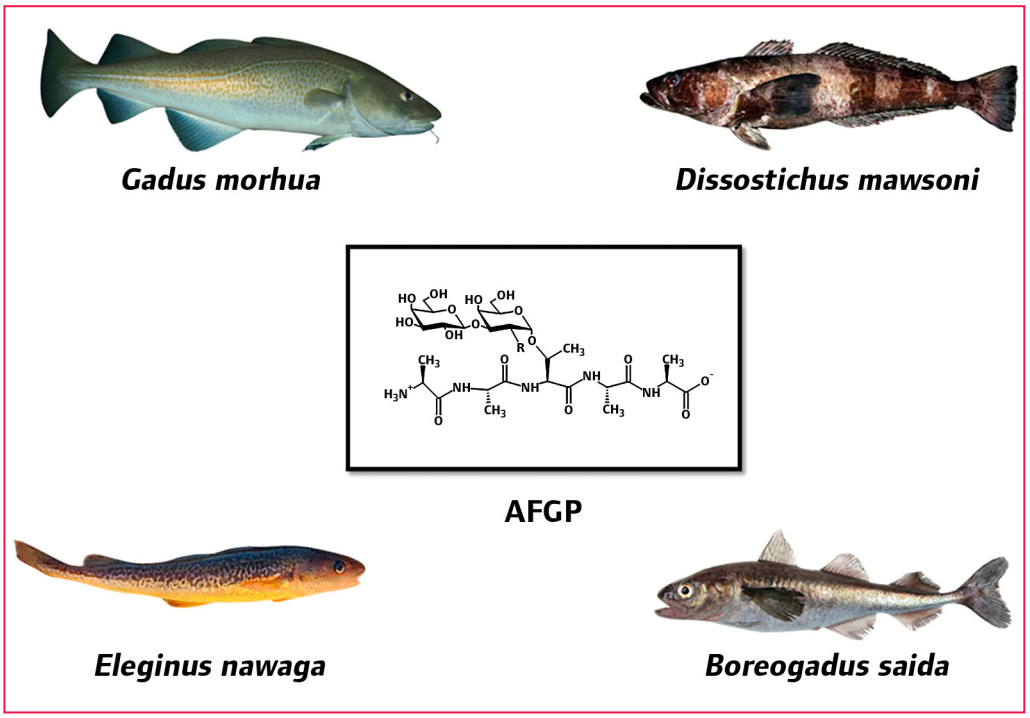


Figura 2.
Espécies que apresentam o gene AFGP como mecanismo anticongelante. Fonte: autoria própria + licença *Creative Commons*.

Sua ação é notável por ser **não coligativa**, diferentemente dos solutos comuns, que reduzem o ponto de congelamento proporcionalmente à sua concentração, as AFGPs atuam por um mecanismo molecular específico e altamente eficiente, sem depender diretamente da quantidade presente. Essa estratégia biológica representa uma solução evolutiva engenhosa para um problema físico extremo.

Ação não coligativa - a ação das AFGPs é considerada não coligativa porque sua ação anticongelante não depende da quantidade total de AFGPs na solução. Um processo coligativo é um fenômeno que ocorre com a adição de um soluto ao solvente, mas essa alteração é influenciada pela natureza química do soluto e não pela quantidade de partículas presentes.

Genética na Escola – ISSN: 1980-3540

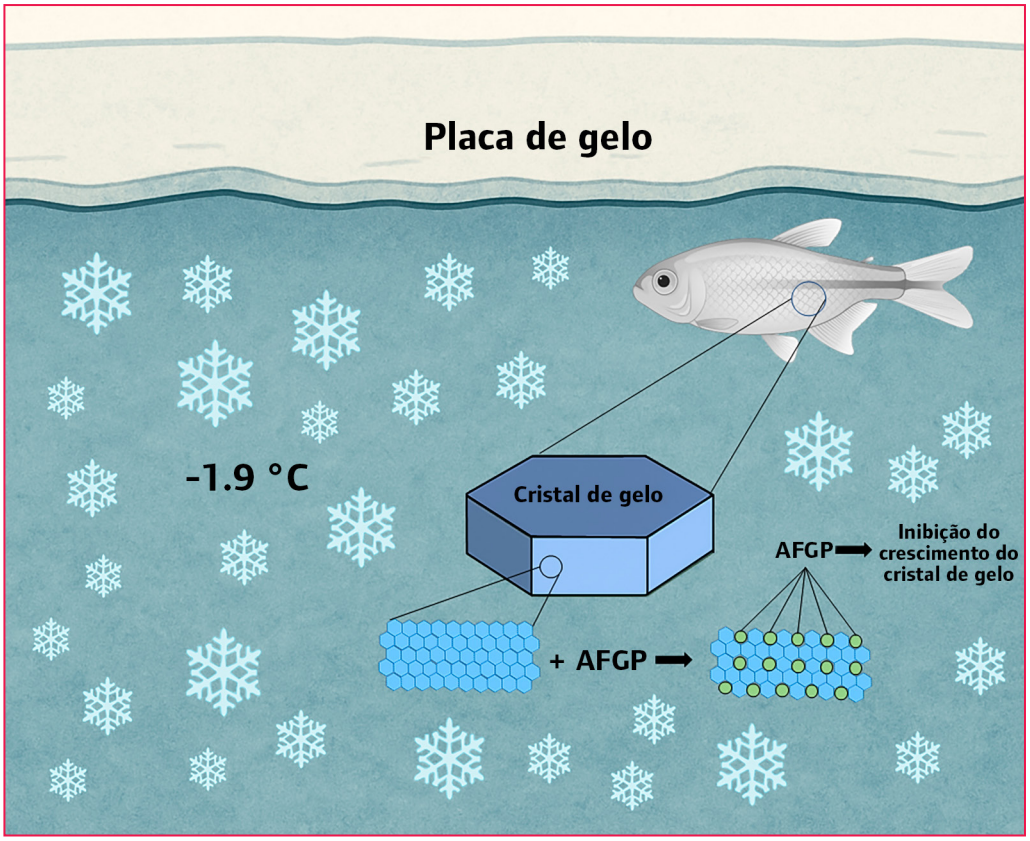


Figura 3.
Mecanismo de funcionamento das proteínas anticongelantes AFGP, inibindo a formação e o crescimento de cristais de gelo ao se intercalar nas estruturas do gelo.

Uma invenção evolutiva

A resposta para esse desafio veio com a evolução das AFGPs. Essas proteínas agem como um "escudo biológico", impedindo o crescimento de cristais de gelo nos fluidos corporais (Figura 3). O gene que codifica as AFGPs passou por um processo evolutivo impressionante, tendo origens distintas nos peixes antárticos e árticos.

A origem dos genes AFGP representa um marco no estudo da evolução molecular funcional. Curiosamente, evoluiu independentemente em duas linhagens distintas de peixes, provavelmente favorecido pela seleção natural em ambientes de baixas temperaturas: nos *Notothenioidei* da Antártida e nos *Gadidae* do Ártico (Figura 2). Este é um dos mais emblemáticos casos de convergência evolutiva, em que soluções moleculares semelhantes emergem de origens genéticas completamente diferentes.

Nos *Notothenioidei*, o gene AFGP surgiu há cerca de 5 a 14 milhões de anos por um mecanismo de nascimento ***de novo*** parcial, no qual um gene ancestral relacionado à digestão (o que codifica a tripsinogênio protease) forneceu elementos estruturais da sequência como o sinal de secreção e uma região 3' não traduzida. A partir de uma curta sequência de apenas 9 nucleotídeos, começaram a ocorrer múltiplas duplicações em **tandem**, formando as repetições do tripeptídeo (Thr-Ala-Ala), unidade estrutural básica das AFGPs (Figura 4).

de novo - refere-se ao processo evolutivo no qual um novo gene funcional surge a partir de sequências de DNA que antes não codificavam proteínas.

Tandem - são um tipo de configuração genética na qual uma sequência de DNA apresenta cópias inseridas imediatamente após a sequência original e na mesma orientação, repetindo-a lado a lado.

Já nos *Gadidae* do Ártico, como o bacalhau do Atlântico, o gene AFGP emergiu completamente de novo, ou seja, a partir de regiões não codificantes do genoma, sem relação com genes preexistentes. Esse evento raro de origem gênica ocorreu há 3 a 18 milhões de anos, em paralelo ao resfriamento do hemisfério norte.

Essas diferenças estruturais entre os genes AFGP refletem trajetórias evolutivas distintas, mas com um produto funcional altamente semelhante, uma clara ilustração de que a evolução pode encontrar caminhos diferentes para resolver o mesmo problema ambiental.

Genética na Escola – ISSN: 1980-3540

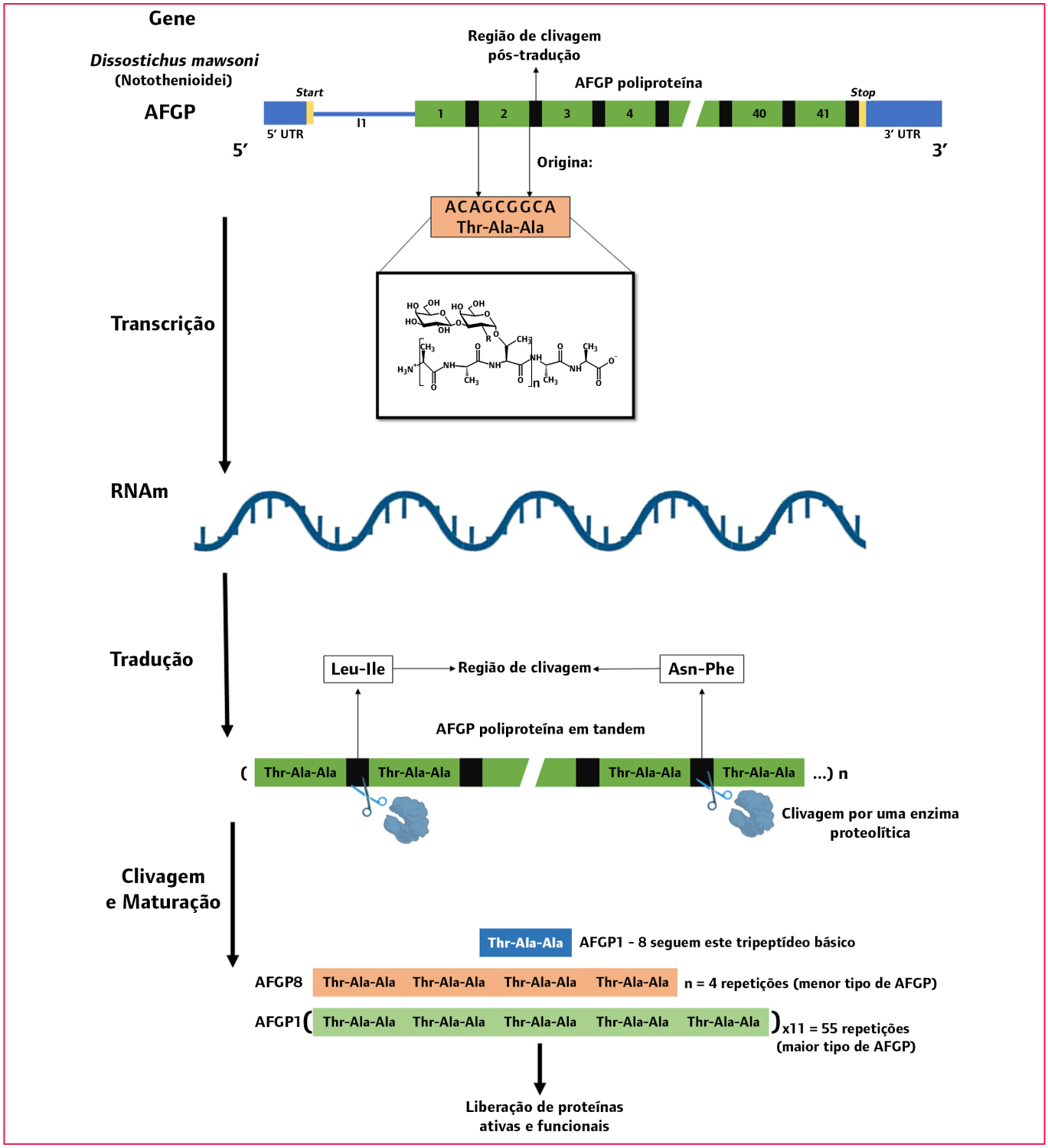


Figura 4.
Representação esquemática da estrutura e expressão do gene que codifica as proteínas anticongelantes (AFGP) em *Dissostichus mawsoni*. O gene AFGP apresenta os principais elementos estruturais: a região 5' não traduzida (5' UTR) (barra espessa inicial em azul) que antecede o códon de iniciação (*start*) (barra amarela inicial) e regula a expressão gênica. Posteriormente apresenta-se o único íntron (I1) (barra fina em azul). O códon de parada (*stop*) (barra amarela final) que marca o fim da tradução. Em seguida existe a região 3' não traduzida (3' UTR) que contribui para a estabilidade do RNAm (barra espessa final em azul). Na tradução forma-se uma poliproteína AFGP composta por repetições do tripeptídeo básico Treonina-Alanina-Alanina (Thr-Ala-Ala) originado da sequência de DNA (ACAGCGGCA) (barras verdes) com n de 4 a 55 repetições. Após a tradução, a poliproteína sofre clivagem pós-traducional por enzimas proteolíticas nas regiões específicas (barras pretas intercalando as verdes) entre os aminoácidos Leucina-Isoleucina ou Asparagina-Fenilalanina (Leu-Ile e Asn-Phe) liberando variantes de AFGPs com capacidade funcional, ou seja, de se ligarem a cristais de gelo. As AFGPs variam em tamanho conforme o número de repetições do tripeptídeo, indo do menor tipo AFGP8, com 4 repetições, ao maior AFGP1, com até 55 repetições, desempenhando papel essencial na adaptação de peixes antárticos a ambientes congelantes. As repetições de 1 a 41 indicadas no esquema representam unidades do tripeptídeo (Thr-Ala-Ala) dispostas em tandem no gene que definem o comprimento da proteína AFGP e sua funcionalidade.

Genética na Escola – ISSN: 1980-3540

Estrutura e mecanismo de ação

Essas glicoproteínas inibem o crescimento de cristais de gelo e promovem um fenômeno conhecido como histerese térmica, ou seja, provoca uma diferença entre os pontos de congelamento e fusão, impedindo que os cristais atinjam tamanhos que causem danos celulares.

Molecularmente, as AFGPs apresentam uma estrutura altamente conservada entre espécies e são compostas por múltiplas repetições do tripeptídeo Thr-Ala-Ala, com a treonina glicosilada (com adição de um carboidrato) por um dissacarídeo de β-D-galactosil-(1→3)-α-D-N-acetilgalactosamina seguido de duas alaninas (Figura 4). Algumas AFGPs menores podem apresentar substituições, como a inserção de prolina (Pro) após a treonina. A conformação dessas moléculas em baixas temperaturas tende a adotar uma hélice, podendo assumir estruturas mais ordenadas na presença de gelo. Estudos por **dicroísmo circular** (CD) e **ressonância magnética** nuclear (RMN) sugerem que a conformação dos carboidratos também influencia diretamente na interação com a matriz de gelo.

As AFGPs atuam principalmente pela adsorção irreversível às superfícies prismáticas dos cristais de gelo (Figura 4), onde se ligam por meio de **pontes de hidrogênio** entre seus grupos hidroxila e a rede de moléculas de água, além de **interações hidrofóbicas** com as alaninas. Isso impede o crescimento dos cristais. A adsorção altera a forma dos cristais e inibe sua recristalização, processo em que cristais pequenos fundem-se para formar estruturas maiores, mais danosas aos tecidos.

Existem pelo menos oito variantes peptídicas de AFGPs (AFGP1 a AFGP8), com massas moleculares variando de 2,6 a 33,7 kDa. As maiores (AFGPs 1 a 5) apresentam forte atividade anticongelante, enquanto as menores (AFGPs 6 a 8), são menos ativas ou inativas isoladamente. A AFGP8, com apenas quatro repetições (~2,6 kDa), é a menor dessas variantes e uma das mais abundantes no sangue dos nototenioides, representando cerca de dois terços das AFGPs circulantes. Já as maiores, como a AFGP1, com até 55 repetições (~33,7 kDa), são mais relevantes para espécies expostas a maiores riscos de contato com gelo ambiental (Figura 4).

Experimentos com **osmômetros** e microscopia permitiram observar diretamente a cristalização e o comportamento térmico de soluções contendo AFGPs puras ou em mistura, em diferentes temperaturas e concentrações. Esses estudos mostraram que a AFGP8, isoladamente, só apresenta atividade anticongelante em condições de resfriamento lento e que os peptídeos menores não são ativos isoladamente em soluções super-resfriadas (-4 a -5 °C). No entanto, quando combinados com variantes maiores da proteína, os pequenos peptídeos passam a apresentar atividade, fenômeno descrito como potenciação cooperativa, no qual o efeito combinado supera a soma dos efeitos individuais. Misturas também demonstraram uma depressão do ponto de congelamento maior que a esperada, evidenciando **efeito sinérgico**.

Os resultados experimentais demonstram que a atividade anticongelante das AFGPs está diretamente relacionada ao tamanho molecular, à conformação da molécula, à presença de outros peptídeos AFGPs menores ou maiores somado às condições específicas do ambiente e do animal. A taxa de resfriamento e a natureza da superfície influenciam de maneira significativa a eficácia das AFGPs. Além disso, essas proteínas demonstraram picos térmicos específicos durante o congelamento, indicando sua capacidade de modular o crescimento do gelo.

Desta forma, as AFGPs atuam por um mecanismo sofisticado de adsorção e inibição de crescimento cristalino, cuja eficiência depende de múltiplos fatores estruturais e ambientais. A compreensão desse mecanismo continua sendo tema central em pesquisas, especialmente visando a aplicação dessas moléculas.

Dicroísmo circular - é uma técnica analítica que mede a absorção diferencial de luz polarizada. É amplamente utilizada para determinar a estrutura de proteínas e outras biomoléculas em solução, bem como para estudar mudanças conformacionais em resposta a diferentes condições.

Ressonância magnética nuclear - técnica poderosa usada para determinar a estrutura tridimensional de moléculas em solução.

Osmômetros - instrumentos utilizados para medir a osmolalidade de uma solução, ou seja, a concentração de partículas dissolvidas que influenciam propriedades coligativas, como o ponto de congelamento.

Efeito sinérgico - ocorre quando a ação combinada de duas ou mais substâncias é maior do que a soma dos efeitos que cada uma produziria isoladamente.

Pontes de hidrogênio - ligações químicas formadas entre um átomo de hidrogênio ligado covalentemente a um átomo eletronegativo (como oxigênio ou nitrogênio) e outro átomo eletronegativo próximo. Apesar de mais fracas que ligações covalentes, são fundamentais para a estabilidade de estruturas biológicas, como proteínas e ácidos nucleicos, além de mediar interações entre moléculas, como no caso da ligação das AFGPs às superfícies dos cristais de gelo.

Interações hidrofóbicas - forças de atração que ocorrem entre moléculas ou regiões apolares (que não interagem bem com a água), levando-as a se agrupar para minimizar o contato com o meio aquoso.

Genética na Escola – ISSN: 1980-3540

Genética e processamento pós-traducional

Um gene poliproteico é um tipo de gene que codifica uma poliproteína, uma longa cadeia polipeptídica que contém múltiplas cópias de uma ou mais proteínas funcionais unidas em sequência. Esse arranjo genético permite que um único transcrito de RNA seja traduzido em uma proteína precursora que, após clivagem, gera várias moléculas biologicamente ativas. Esse mecanismo é eficiente porque reduz a necessidade de múltiplos promotores e sítios de tradução, otimizando a produção de proteínas em grande quantidade a partir de um único gene.

No caso do gene AFGP dos nototenioides (peixes antárticos), a poliproteína precursora contém até 46 cópias funcionais de AFGPs, cada uma capaz de se ligar ao gelo e impedir a formação de cristais, protegendo o organismo em águas subzero. Essas cópias estão dispostas em sequência, separadas por pequenos peptídeos de ligação Leucina-Isoleucina/Asparagina-Fenilalanina (Leu-Ile/Asn-Phe), que servem como **sítios de clivagem** para enzimas proteolíticas. Após a tradução, essas enzimas cortam a poliproteína nos resíduos específicos, liberando as AFGPs individuais maduras e funcionais (Figura 4). Esse processo permite uma produção rápida e coordenada de grandes quantidades de proteínas anticongelantes.

As AFGPs circulam em concentrações elevadíssimas no sangue dos peixes polares, chegando a 30-35 mg/ml, o que garante sua eficácia mesmo em ambientes saturados de cristais de gelo.

Convergência evolutiva: caminhos diferentes e mesma solução

Embora tanto os nototenioides quanto os gadídeos possuam proteínas AFGPs estrutural e funcionalmente semelhantes, a análise detalhada de seus genomas revela origens completamente independentes para os genes correspondentes. Eles diferem em sinais de secreção, posições de íntrons, códons utilizados para codificar o mesmo tripeptídeo básico e localização em regiões genômicas.

Esse é um dos casos mais emblemáticos de convergência evolutiva molecular já descritos, pois diferentes linhagens de peixes, enfrentando pressões ambientais semelhantes, apresentam soluções moleculares quase idênticas, favorecidas pela seleção natural, partindo de origens genéticas completamente distintas.

Ecologia e importância evolutiva

Nas águas antárticas, a presença das AFGPs foi crucial para a radiação adaptativa dos *Notothenioidei*, que hoje representam mais de 50% das espécies de peixes e até 95% da biomassa da região. Além de impedir o congelamento, as AFGPs permitem que esses peixes sobrevivam mesmo com gelo endógeno presente nos tecidos, como no baço e em regiões superficiais do corpo durante os meses mais frios.

Sítios de clivagem - são sequências específicas de aminoácidos ou nucleotídeos em uma molécula que são reconhecidas e cortadas por enzimas específicas, para liberar as moléculas individuais e funcionais.



Genética na Escola – ISSN: 1980-3540

Esse sucesso ecológico mostra como uma única inovação molecular pode reconfigurar profundamente a biodiversidade e a ocupação ecológica de uma região inteira.

Potenciais aplicações das AFGPs

A notável capacidade das glicoproteínas anticongelantes de controlar a formação e o crescimento de cristais de gelo tem motivado o desenvolvimento de aplicações tecnológicas e biomédicas. Na medicina, as AFGPs vêm sendo exploradas em técnicas de criopreservação de células sanguíneas, óvulos, espermatozoides e órgãos, além de estudos voltados à **criocirurgia** oncológica. Elas atuam preservando a integridade celular ao evitar a ruptura de membranas durante o congelamento, seja pela inibição do fluxo de íons, pela estabilização de membranas lipídicas ou ainda pela interação com grupos polares dos lipídios. Além disso, ajudam a manter o estado "livre de gelo" em baixas temperaturas, sendo inclusive capazes de substituir crioprotetores tóxicos como o **DMSO**. Aplicações bem-sucedidas já foram registradas em ovócitos de porcos e camundongos, com melhora nas taxas de sobrevivência pós-congelamento.

Na indústria alimentícia, as AFGPs também oferecem benefícios, como a preservação da textura e qualidade de produtos congelados, incluindo peixes, carnes e sorvetes, ao impedir danos estruturais causados pela recristalização do gelo. No entanto, a produção comercial dessas proteínas ainda enfrenta desafios consideráveis. A extração natural a partir de peixes polares é limitada, e a síntese laboratorial, embora uma alternativa promissora, é cara, complexa e pouco escalável. Além disso, existem obstáculos como a variabilidade de efeitos entre diferentes variantes peptídicas, potenciais citotoxicidades em certas concentrações e dificuldades na produção em larga escala. Para superar essas limitações, esforços têm sido direcionados à síntese química de análogos estáveis e customizáveis, que mantenham ou otimizem a atividade anticongelante. Dessa forma, as AFGPs despontam como moléculas de alto potencial para aplicações futuras em criobiotecnologia, nanomedicina e conservação de alimentos.

Considerações finais

A história das AFGPs ilustra de forma única os caminhos criativos da evolução molecular, mostrando como a pressão ambiental extrema pode transformar um gene com função na digestão ou até mesmo DNA não codificador em uma solução bioquímica inovadora.

Além de ser um modelo clássico de adaptação, formação de genes e convergência evolutiva, o estudo das AFGPs continua a inspirar avanços científicos e tecnológicos, mostrando como a vida consegue sobreviver e prosperar mesmo sob as condições mais inóspitas do planeta.

Criocirurgia - técnica terapêutica que utiliza temperaturas extremamente baixas para tratar lesões.

DMSO - o dimetilsulfóxido é um solvente orgânico comumente utilizado como crioprotetor, ou seja, uma substância que ajuda a proteger células e tecidos de danos causados pelo congelamento e descongelamento. Ele atua reduzindo a formação de cristais de gelo intracelulares, que podem ser prejudiciais. No entanto, o DMSO é conhecido por sua toxicidade em certas concentrações.

Para saber mais

CHEN, L., DEVRIES, A.L., CHENG, C.C. Evolution of antifreeze glycoprotein gene from a trypsinogen gene in Antarctic notothenioid fish. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, v. 94, p. 3811–3816, 1997.

LOGSDON, J.M. Jr., DOOLITTLE, W. F. Origin of antifreeze protein genes: a cool tale in molecular evolution. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, v. 94, p. 3485–3487, 1997.

MULVIHILL, D.M., GEOGHEGAN, K.F., YEH, Y., DEREMER, K., OSUGA, D.T., WARD, F.C., FEENEY, R. E. Antifreeze glycoproteins from Polar fish. Effects of freezing conditions on cooperative function. *The Journal of Biological Chemistry*, v. 255, n. 2, p. 659–662, 1980.

PELTIER, R., BRIMBLE, M.A., WOJNAR, J.M., WILLIAMS, D.E., EVANS, C.W., DeVRIES, A.L. Synthesis and antifreeze activity of fish antifreeze glycoproteins and their analogues *Chemical Science*, v. 1, n. 3, p. 538–551, 2010.