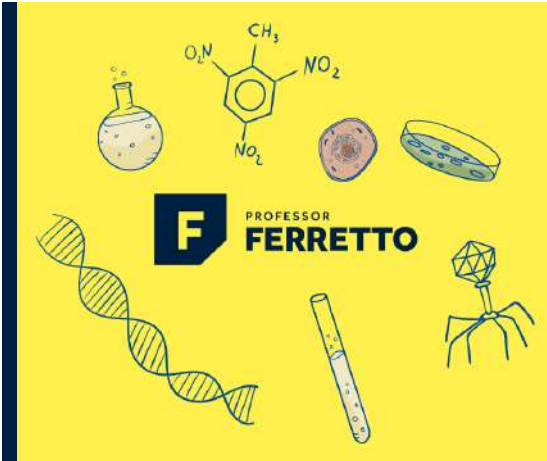


# Biologia

PROFESSOR FLÁVIO LANDIM

## ENGENHARIA GENÉTICA



### ASSUNTOS DA AULA.

Clique no assunto desejado e seja direcionado para o tema.

- [Engenharia Genética](#)
- [Técnica do DNA recombinante](#)
- [DNA recombinante e vetores](#)
- [Inserção do vetor](#)
- [Resumo da técnica do DNA recombinante](#)
- [Utilidades das plantas transgênicas](#)
- [E os transgênicos são realmente perigosos?](#)
- [Terapia Gênica ou Geneterapia](#)
- [Doping Genético](#)
- [Vacinas de DNA](#)

Compreende-se por **Biotecnologia**, um conjunto de técnicas em que se usam as propriedades do material biológico para finalidades bastante diversificadas. Assim, algumas substâncias de importância médica são obtidas por engenharia genética, uma das técnicas da biotecnologia. Anticorpos de alta pureza são construídos com técnicas de laboratório e permitem, entre outras coisas, diagnósticos médicos mais rápidos e mais precisos. Por técnicas biotecnológicas, já se pode melhorar as características genéticas de plantas e animais ligados ao consumo humano, tanto no que diz respeito à produtividade, como à resistência a pragas e parasitas. Espera-se conseguir, por intermédio de biotecnologia, uma nova geração de vacinas, mais eficientes e mais seguras do que as que existem atualmente. Algumas dessas vacinas podem ser diretamente produzidas por animais e plantas de consumo humano através da implantação de genes que levem à produção dessas substâncias.

A **Engenharia Genética** não é exatamente uma ciência. Trata-se, na realidade, de um conjunto de técnicas de laboratório desenvolvidas a partir de 1973. Essa tecnologia permite isolar e modificar genes e eventualmente enxertá-los em células diferentes das de origem. Além do evidente avanço sobre o conhecimento de como funcionam os genes, essas técnicas permitem a produção de substâncias úteis à indústria e à medicina.

Já foi dito anteriormente que os genes controlam nas células a síntese das proteínas necessárias ao funcionamento celular. O isolamento de determinados genes e seu posterior enxerto em células de microrganismos, como bactérias e leveduras, além de ajudar a compreender as etapas básicas na síntese protéica, também deram a esperança de produzirmos um dia, em grande escala, certas proteínas de importância médica e de difícil obtenção. Já se pode obter, a partir de bactérias geneticamente modificadas com genes humanos, o hormônio de crescimento (STH), normalmente obtido de hipófise de cadáveres e utilizado na prevenção do nanis-

mo. Já se pode obter também insulina com a mesma técnica, o que é importante, porque esta substância é indispensável ao tratamento e controle do diabetes. Até pouco tempo ela era extraída em pequeníssimas quantidades de pâncreas de origem animal obtidos em matadouros. Outra conquista da engenharia genética é a obtenção dos fatores de coagulação que faltam nos hemofílicos, caso do fator VIII usado no tratamento da hemofilia A, a mais comum delas. Esses fatores viriam a substituir, com imensa vantagem, os produtos hoje obtidos de sangue humano, e cuja utilização se faz com grande risco de contaminação.

Essas bactérias geneticamente modificadas para a produção de substâncias de utilidade médica passam a agir como **biofábricas** ou **biorreatores**.

Atualmente, pode-se enxertar genes de praticamente qualquer organismo em qualquer organismo, podendo-se implantar genes de animais em plantas, de plantas em animais, de animais em bactérias ou qualquer combinação que a imaginação e a ética permitam. Empresas de biotecnologia, como Aventis, Novartis e Monsanto, têm desenvolvido plantas com genes de bactérias que produzem seu próprio inseticida, plantas resistentes a herbicidas, plantas que produzem vacinas e uma infinidade de outras características. Combinações esquisitas, como plantas de tabaco com genes de vaga-lume e ratos com genes de águas-vivas, geraram estranhos seres fosforescentes (imagine uma planta ou rato que brilham no escuro: pois isto já foi conseguido com a implantação de genes de águas-vivas que produzem substâncias brilhantes...)

A base para esta técnica é a **universalidade** do código genético: se o código genético é o mesmo para todos os seres vivos (exceção, lembre-se, de certas mitocôndrias), um gene de um organismo X implantado num organismo Y será traduzido da mesma forma em X e em Y, gerando a mesma proteína. Como é o RNAm que define a sequência de aminoácidos nas proteínas, e esse RNAm no caso vem organismo X, a proteína fabricada será idêntica à proteína dele, mesmo que seja o organismo Y o fabricante.



NÍQUEL NÁUSEA – Fernando Gonsales

## TÉCNICA DO DNA RECOMBINANTE

A técnica do DNA recombinante consiste na adição de um fragmento de DNA (gene ou genes) de um organismo em outro organismo, que passa ser designado como um **organismo geneticamente modificado (OGM) ou organismo transgênico**. (Na verdade, há uma certa diferença entre essas duas categorias:

o OGM é aquele organismo que passou por qualquer modificação genética, enquanto que o transgênico recebeu especificamente um gene de outra espécie; assim todo transgênico é OGM, mas nem todo OGM é transgênico, no caso de ele receber gene de outro indivíduo mas de mesma espécie.) A técnica central na tecnologia do DNA recombinante é o isolamento de moléculas de DNA e sua propagação em um organismo. Essa técnica é chamada **clonagem de DNA**. Portanto, a clonagem de DNA significa produzir inúmeras cópias idênticas de um mesmo trecho da molécula de DNA. Para isso é preciso isolar o trecho de DNA a ser clonado. Esse processo envolve a fragmentação do DNA dos cromossomos na interfase, o que é feito pela ação de enzimas especiais denominadas **enzimas endonucleases de restrição**.

## ENZIMAS DE RESTRIÇÃO

Foi a descoberta das **enzimas endonucleases de restrição** que possibilitou o advento da técnica do DNA recombinante. Estas enzimas foram inicialmente encontradas em bactérias para que pudessem se proteger do ataque de vírus bacteriófagos. Estes vírus agem injetando seu DNA viral na bactéria hospedeira, de modo que este DNA é incorporado ao genoma bacteriano. A bactéria passa a expressar o genoma viral, o que leva à produção de novos vírus, que rompem a membrana da célula bacteriana e, conseqüentemente, causam a morte da bactéria, no chamado ciclo lítico.

Algumas bactérias se protegem do ataque de bacteriófagos com enzimas de restrição, que cortam o DNA viral adicionado ao genoma bacteriano, evitando assim a expressão do DNA viral que culminaria com a reprodução dos bacteriófagos e morte da célula bacteriana. As enzimas de restrição são de vários tipos, e cada uma corta o DNA num ponto específico de sequência de nucleotídeos (ou seja, as enzimas de restrição, como qualquer outra enzima, são específicas: elas agem apenas numa determinada sequência de bases nitrogenadas).

Hoje há inúmeras dessas enzimas de restrição identificadas, as quais são isoladas das bactérias e purificadas. Essas enzimas são comercializadas por grandes empresas da área de Biologia molecular e vendidas a especialistas que trabalham nessa área.

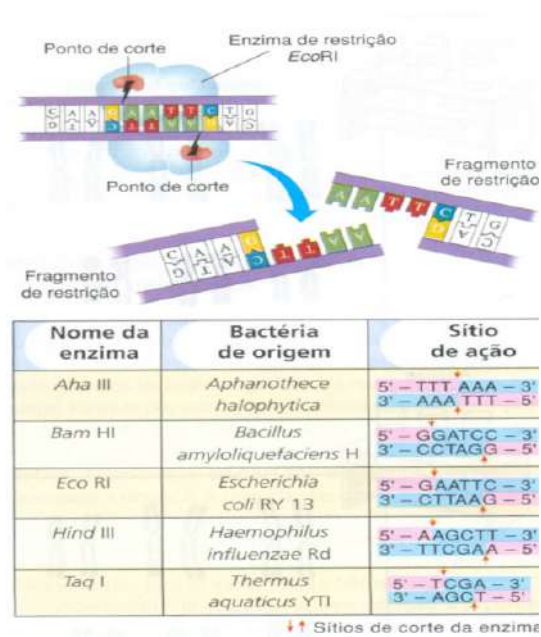
Cada enzima de restrição corta o DNA somente quando encontra uma sequência específica de bases nitrogenadas. Esse corte, então, não é feito em qualquer lugar. Os cientistas já sabem onde atua cada uma das enzimas de restrição conhecidas. Por exemplo, existe uma enzima chamada **Eco RI**, que corta o DNA toda vez que encontra a seguinte sequência:



GAATTC  
CTTAAG

Ao encontrar essa sequência, a **Eco RI** sempre corta o DNA entre as bases **G** e **A**. Perceba que a sequência cortada pela Eco RI (que tem esse nome por ser extraída da bactéria *Escherichia coli*) é idêntica quando lida da esquerda para a direita e da direita para esquerda, sendo, pois, um **palíndromo**. Todas as enzimas de restrição agem cortando sequências palíndromos, mas de modo altamente específico: cada tipo de enzima reconhece e corta apenas uma determinada sequência de nucleotídeos, em geral constituída por 4 ou 6 pares de bases nitrogenadas.

As extremidades deixadas nos pontos de corte são exatamente complementares, sendo conhecidas como **extremidades pegajosas**. Ao se encontrarem com extremidades equivalentes, por serem complementares, naturalmente se pareiam por pontes de hidrogênio.



Representação do modo de ação da endonuclease de restrição *Eco* RI. A tabela mostra as sequências de corte reconhecidas de restrição, os pontos onde elas cortam essas sequências e a linhagem de bactéria que produz cada enzima. O nome das enzimas compõe-se das iniciais do nome da espécie e, às vezes, da sigla da linhagem da bactéria que a produz.

Na natureza, as enzimas de restrição são encontradas em bactérias. Acredita-se que as bactérias tenham desenvolvido essas enzimas de restrição ao longo de sua evolução, como proteção ao ataque de bacteriófagos. Uma molécula de DNA viral que contenha sítios para uma endonuclease bacteriana, ao ser injetada na bactéria, é prontamente cortada nesses pontos e deixa de funcionar. Hoje são conhecidas centenas dessas enzimas, que são purificadas e comercializadas por diversos laboratórios no mundo.

## DNA RECOMBINANTE E VETORES

Os genes ou trechos de DNA isolados são unidos a moléculas de DNA de um organismo que aceita essa manipulação. As **extremidades pegajosas** deixadas pela ação de uma mesma **enzima de restrição** sobre os trechos de DNA que se quer unir, naturalmente se pareia por **pontes de hidrogênio**. Para consolidar a ligação entre esses trechos, a enzima **DNA ligase** promove **ligações fosfodiéster** entre os trechos de DNA a serem unidos.

O DNA usado como suporte para o gene de interesse é genericamente chamado **vetor**. Nesse processo têm sido utilizados como vetores os DNAs

de vários organismos, destacando-se o das bactérias e o dos vírus. A molécula de DNA vetor, associada ao trecho do DNA em estudo, é denominada **DNA recombinante**.

O DNA recombinante é introduzido nesses microrganismos, que ao se reproduzirem, multiplicam essas moléculas recombinantes, dando origem a um grande número de cópias idênticas. Esse processo recebe o nome de **clonagem gênica** ou **clonagem de DNA**. Consegue-se, desse modo, produzir um grande número de cópias exatas de um mesmo gene ou trecho do DNA.

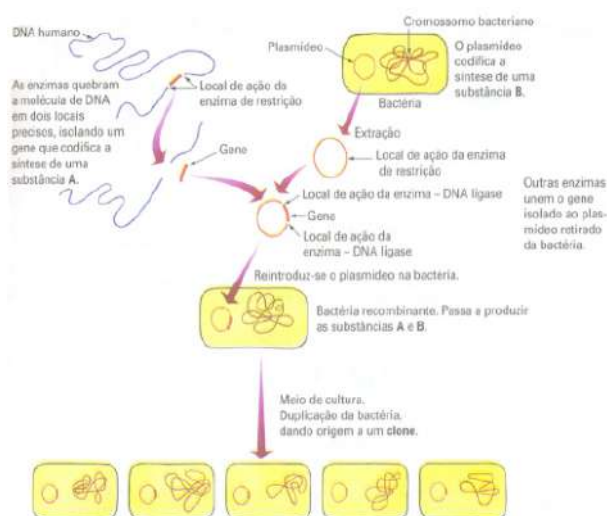
Tome nota:

## PLASMÍDEOS

Um microrganismo largamente usado nesse processo é a bactéria *Escherichia coli*, encontrada normalmente no tubo digestivo humano. A maior parte do material genético da bactéria encontra-se em seu único cromossomo, que contém alguns milhares de genes. O restante do material genético encontra-se em pequenos anéis de DNA, chamados **plasmídios**, que são frequentemente usados como veículos na técnica de enxerto de genes, porque podem ser manipulados, e as bactérias continuam vivendo e se reproduzindo normalmente. Nos plasmídeos estão, em geral, genes que conferem às bactérias resistência a antibióticos.

Uma vez isolados, os plasmídios são submetidos à ação das enzimas de restrição, que os corta em regiões específicas. Assim, aparecem lacunas em certos pontos do anel plasmídico. Os plasmídios "abertos" são colocados em contato com os genes que se quer enxertar, sejam eles de proveniência humana, de animais, plantas ou outras bactérias. Esse material genético precisa ter sido anteriormente submetido à ação de enzimas de restrição, e também "cortado" de forma específica. O material genético a ser enxertado se "encaixa" com precisão no material genético do plasmídio aberto.

Acompanhe pelo esquema a seguir como se pode formar uma molécula de DNA recombinante e clonar essa molécula em uma bactéria.



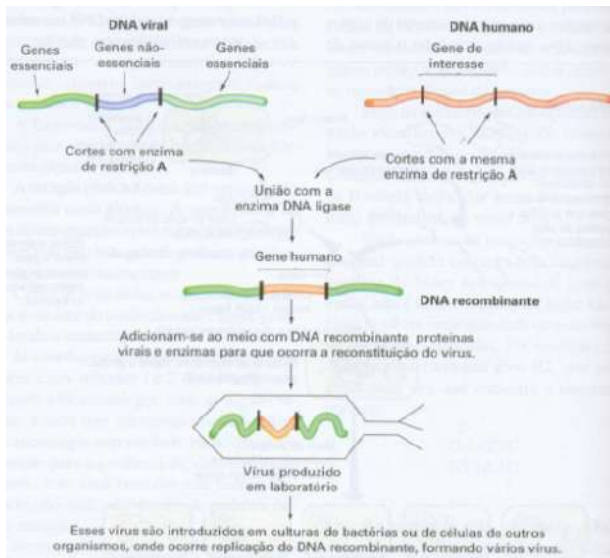
## VÍRUS

A clonagem de DNA também pode ser feita com os vírus, pois, assim como as bactérias, eles permitem que seu material genético seja manipulado e alterado sem que isso afete seu poder de reprodução.

Hoje se sabe que no material genético dos vírus existem genes necessários à reprodução e genes que não se relacionam com essa capacidade. Os genes não necessários à reprodução geralmente se localizam nas pontas do cromossomo viral, enquanto os necessários à reprodução localizam-se no meio desse cromossomo. Por outro lado, esses genes na extremidade do genoma viral são essenciais à capacidade do vírus em ser adicionado ao genoma da célula hospedeira.

Os cientistas conseguem isolar o DNA viral e, utilizando enzimas de restrição específicas, cortam-no, separando os genes essenciais para a reprodução dos genes não-essenciais. No lugar destes, introduzem o gene de outro organismo que pretendem clonar. Assim forma-se uma molécula de DNA recombinante. Essa molécula é colocada em um meio contendo as proteínas da cápsula do vírus e enzimas especiais que promovem a reconstituição do vírus. (Os segmentos com os genes para a replicação do material genético viral são inseridos no meio à parte do DNA viral recombinante, de modo que o DNA viral recombinante pode se multiplicar mesmo sem possuir os genes para a reprodução.)

Dessa forma, originam-se *vírus in vitro*, ou seja, em laboratório. Esses vírus assim produzidos são colocados em contato com células hospedeiras, que podem ser de bactérias ou de qualquer outro organismo. Desse modo os cientistas introduzem nas células o DNA recombinante que passa a comandar a produção de grande número de novos vírus, todos geneticamente idênticos entre si. Acompanhe o que foi descrito pelo esquema a seguir.



## CROMOSSOMOS ARTIFICIAIS DE LEVEDURA

Atualmente, podem-se clonar segmentos muito grandes de DNA em células da levedura *Saccharomyces cerevisiae*. Nesse caso, o vetor é um segmento de DNA plasmidial capaz de se multiplicar em células da levedura, comportando-se como um dos cromossomos desse fungo, duplicando-se e sendo transmitido às células-filhas. Esse vetor é conhecido pela sigla YAC (do inglês, *yeast artificial chromosome*, cromossomo artificial de levedura).

## INSERÇÃO DO VETOR

O passo seguinte consiste em introduzir os plasmídios "recombinantes" em bactérias normais, o que é feito através da bactéria *Agrobacterium tumefaciens* (capaz de inocular genes em plantas) ou de vírus modificados com o DNA do transgene. Mais tarde, quando essas bactérias se duplicam, os plasmídios também se reproduzem, sendo distribuídos para as bactérias filhas. Assim, obtém-se um clone de bactérias "reprogramadas", que podem se multiplicar em número muito grande, e que possuem todas o gene "enxertado". Em muitos casos, o gene novo se "expressa", e as bactérias começam a produzir *in vitro*, e em grande quantidade, a proteína que o gene codifica.

Outras técnicas de introdução do vetor recombinante no organismo a ser modificado são:

- **biobalística**: revestem-se partículas de ouro com o vetor recombinante; essas partículas são literalmente "atiradas" contra o núcleo da célula, sendo que algumas acabam sendo incorporadas a ele;

- **injeção do vetor recombinante por microagulhas**

- **eletroporação**: passa-se uma corrente elétrica pela célula, o que faz com que se abram poros na carioteca, facilitando a entrada do vetor recombinante no núcleo.

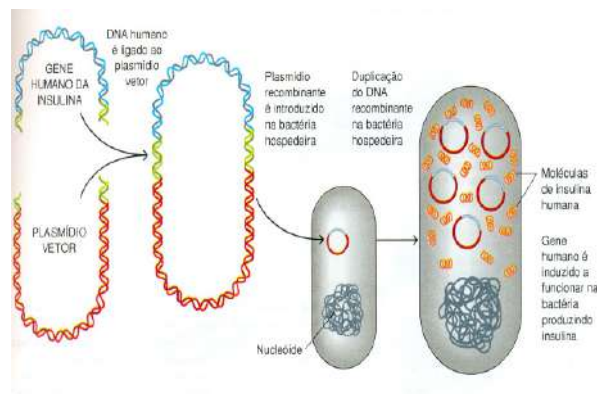
Esses organismos são ditos **seres transgênicos**: seres modificados por engenharia genética que contêm genes de outras espécies. Por exemplo, se pega uma bactéria como a *Escherichia coli* (bactérias são os organismos mais fáceis de se trabalhar com engenharia genética, pela sua constituição genética simples) e, através de enzimas de restrição específicas, coloca-se em seus plasmídeos genes humanos. A partir daí a bactéria começa a produzir as substâncias indicadas pelo gene humano.

Tome nota:

## UM EXEMPLO DE TRANSGENIA

Em 1977, obteve-se pela primeira vez a síntese de uma proteína humana por uma bactéria transformada. Um segmento de DNA com 60 pares de nucleotídeos, contendo o código para a síntese da somatostatina (um hormônio composto de 14 aminoácidos), foi ligado a um plasmídeo e introduzido em uma bactéria, a partir da qual foram obtidos clones capazes de produzir somatostatina.

A insulina foi a primeira proteína humana produzida por engenharia genética em células de bactérias e aprovada para uso em pessoas. Até então, a fonte desse hormônio para tratamento de diabéticos eram os pâncreas de bois e de porcos, obtidos em matadouros. Apesar de a insulina desses animais ser muito semelhante à humana, ela causa problemas alérgicos em algumas pessoas diabéticas que utilizam o medicamento. A insulina produzida em bactérias transformadas, por outro lado, é idêntica à do pâncreas humano e não causa alergia, devendo substituir definitivamente a insulina animal.



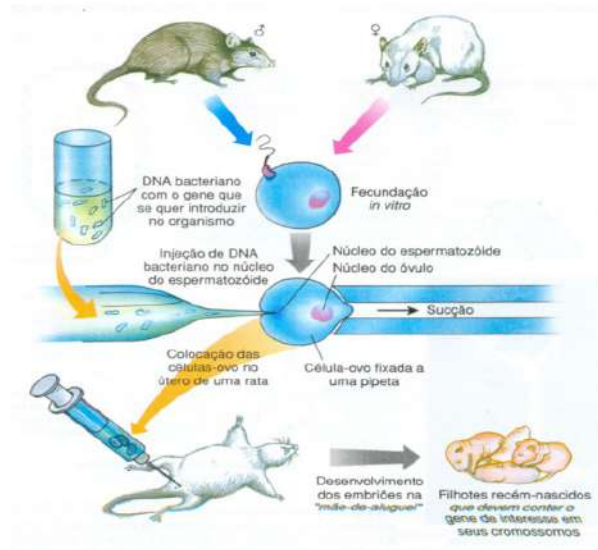
O hormônio de crescimento humano, a somatotrofina, foi produzido pela primeira vez em bactérias em 1979, mas a versão comercial só foi liberada em 1985, após ter sido submetida a inúmeros testes que mostram sua eficiência. O hormônio de crescimento é produzido pela hipófise; na sua ausência ou em quantidade muito baixa, a criança não se desenvolve adequadamente. Até pouco tempo atrás, a única opção para crianças que nasciam com deficiência hipofisária da somatotrofina era o tratamento com hormônio extraído da hipófise de cadáveres. Agora esse hormônio é produzido por técnicas de engenharia genética.

## ANIMAIS TRANSGÊNICOS

Animais transgênicos são produzidos pela injeção de DNA previamente clonado a partir de uma espécie em ovos de outra espécie. O DNA multiplicado por meio da clonagem é extraído do vetor, purificado e injetado, com uma microagulha, no núcleo de ovos da espécie que se deseja transformar. Se a espécie em questão for um mamífero, como um camundongo, por exemplo, é necessário fazer a fecundação *in vitro* (isto é, fora do corpo da fêmea, dentro de um recipiente de laboratório) e, posteriormente, implantar o embrião no útero de uma fêmea em período fértil. Para isso, é preciso retirar os óvulos das fêmeas, colocá-las em um líquido apropriado e adicionar espermatozoides.

O processo da fecundação é acompanhado ao microscópio e, tão logo ocorra, o DNA clonado é injetado no ovo. A microinjeção é feita por meio de uma aparelhagem de micromanipulação, em que o DNA contido em uma finíssima agulha é injetado diretamente no núcleo do ovo. Os embriões originados desses ovos são, então, implantados no útero de uma fêmea, onde se desenvolvem.

Em geral, uma ou mais moléculas do DNA injetado incorporam-se aos cromossomos da célula-ovo, sendo transmitidas às células-filhas quando o zigoto se dividir. Assim, todas as células do indivíduo conterão esse DNA. Quando o organismo transgênico se reproduzir, os genes incorporados serão transmitidos aos descendentes, como qualquer outro gene.



O primeiro transplante de genes bem-sucedido, em animais, foi realizado em 1981. Pedacos de DNA de coelho com o gene da hemoglobina foram injetados em ovos de camundongos; estes foram implantados no útero de fêmeas de camundongo, onde se desenvolveram. Os camundongos nascidos desses ovos tinham hemoglobina de coelho em suas hemácias. Isso mostrou que o DNA injetado no ovo se incorporou a um cromossomo e foi transmitido de célula a célula, por meio das mitoses ocorridas no desenvolvimento embrionário. Quando os camundongos transgênicos foram cruzados, o gene do coelho incorporado ao seu genoma foi transmitido de geração a geração, segundo as leis básicas da herança.

Tome nota:

## RESUMO DA TÉCNICA DO DNA RECOMBINANTE

A técnica do DNA recombinante consiste basicamente em quatro etapas. Para descrevê-la, usaremos como exemplo a fabricação do arroz dourado, um arroz com genes para a produção de vitamina A.



1) **A busca dos genes:** Os cientistas identificam nos organismos doadores, a erva narciso e a bactéria *Erwinia*, os genes responsáveis pela produção de betacaroteno, o nutriente que serve como construtor da vitamina A. Com o auxílio de enzimas de restrição, eles são isolados.

2) **O intermediário:** Os genes, junto com os segmentos do DNA responsáveis por sua ativação, são inseridos nos plasmídeos, moléculas de DNA com capacidade de duplicação autônoma existentes no interior das agrobactérias conhecidas como *Agrobacterium tumefaciens*. Outra possibilidade de inserção dos genes é através de vírus modificados que tiveram seus genes prejudiciais removidos e os transgenes adicionados por enzimas de restrição.

3) **O transplante:** Embriões de arroz comum, colocados em dois recipientes, são infectados pelas agrobactérias. No processo, assimilam os genes portadores da construção para produzir betacaroteno. No caso dos vírus, que são especialistas em invadir células e adicionar seu DNA, cabe a eles o trabalho mais difícil, implantar os transgenes no receptor sem que este tenha seus genes originais alterados de modo fatal.

4) **A seleção:** Como no processo convencional de melhoramento genético, as primeiras plantas são submetidas a cruzamentos entre indivíduos da mesma espécie, permitindo a seleção daquelas com padrões desejáveis. São as sementes destas que irão germinar nos campos e cultura geneticamente modificadas. Na fabricação de bactérias transgênicas, costuma-se implantar genes para resistência bacteriana a antibióticos junto com o gene que se quer transplantar. Assim, para a seleção das bactérias que receberam os transgenes (e junto os genes para resistência), aplica-se o antibiótico: as sobreviventes são as que receberam os transgenes. Esse mesmo procedimento pode ser feito para selecionar plantas que aceitaram os transgenes.

## UTILIDADES DAS PLANTAS TRANSGÊNICAS

A obtenção de plantas de qualidades especiais já vem sendo feita há quase uma década. Plantas podem ser modificadas para a produção de inseticidas, como o milho Bt, da Novartis, que traz um gene da bactéria *Bacillus thuringiensis*, que leva à produção deste inseticida natural. Ou então para a resistência contra herbicidas, como a soja *Roundup Ready* (RR), da Monsanto. Estas são plantas mais resistentes, mais produtivas, e consequentemente, mais baratas. Ainda há a vantagem de se consumir um alimento com menos substâncias tóxicas, pois se pode usar na lavoura menos inseticidas e menos herbicidas.

Pode-se obter vegetais mais nutritivos, como plantas que produzem mais vitaminas. É o caso do arroz dourado, mencionado anteriormente e que produz vitamina A, ou o caso de uma alface modificada com genes de rato para que produza vitamina C. As expectativas futuras estão no desenvolvimento de plantas que trazem consigo genes para a produção de vacinas.

Resumidamente, os benefícios são:

- Possibilidade de inserção de genes para produção de vacinas: em fase de testes, possibilitaria a aplicação de vacinas de modo contínuo e com bastante abrangência.
- Aumento de produtividade: as safras transgênicas podem ajudar a alimentar regiões pobres, onde precárias condições de cultivo e dificuldades climáticas e edáficas tornam as plantações muito menos produtivas que o possível.
- Redução de pesticidas: no caso de plantas Bt, que produzem toxinas contra insetos, diminui-se a necessidade de pesticidas químicos, ou no caso de plantas como a soja RR, que é resistente a herbicidas, diminui-se a necessidade da utilização dessas substâncias.
- Melhora na nutrição: os alimentos que possuem baixo teor de proteína e vitaminas podem ser melhorados, como no caso do arroz dourado produtor de vitamina A.

## TRANSGÊNICOS MUNDO AFORA

Em 2001, mais de 60% de todos os alimentos industrializados à venda nos supermercados dos EUA continham ingredientes de milho, soja ou canola transgênicos. Desde a última década, mais ou menos, as plantas transgênicas deixaram de ser curiosidade de laboratório e passaram a ser cultivadas em escala maciça. Nesta época, ocupavam

cerca de 53 milhões de hectares (!) em 13 países. Entre os quais Argentina, Canadá, China, África do Sul, Austrália, Alemanha e Espanha. Nos EUA, a área plantada com safras transgênicas aumentou quase 25 vezes, de 1,5 milhão de hectares em 1996 para 35,7 milhões de hectares em 2001 (!!).

## TRANSGÊNICO NO BRASIL

A polêmica em torno da liberação ou não de alimentos transgênicos no Brasil se arrasta desde 1995, quando foi montada a Comissão Técnica Nacional de Biossegurança (CTNBio), ligada ao Ministério da Ciência e Tecnologia, responsável por decisões neste campo. Em 1997, a empresa de biotecnologia Monsanto conseguiu autorização do CTNBio para plantar no Brasil a soja transgênica Roundup Ready, mas o Instituto Brasileiro de

Defesa do Consumidor entrou na justiça para cancelar a liberação, com o argumento de que o plantio de transgênicos só poderia ser autorizado após a realização de estudos de impacto ambiental. Em 2006, a plantação de transgênicos foi legalizada no Brasil com a Lei de Biossegurança que regulamenta vários aspectos relacionados a biotecnologia.

**Tome nota:**

## E OS TRANSGÊNICOS SÃO REALMENTE PERIGOSOS?

Esta é uma boa pergunta. Há sérias controvérsias entre os pesquisadores na hora de respondê-la. Alguns cientistas argumentam que a humanidade vem alterando geneticamente alimentos há mais tempo do que se possa pensar. Várias plantas consumidas hoje em dia são variedades híbridas produzidas pelo cruzamento entre espécies selvagens ou variedades poliploides de plantas selvagens. O trigo original (gênero *Tritium*) era diploide com um número de cromossomos  $2n = 14$ . As variedades mais consumidas atualmente foram sendo produzidas por cruzamentos sucessivos até se obter uma variedade hexaploides com  $6n = 42$  cromossomos! A diferença é que a engenharia genética pode implantar um ou poucos genes de espécies completamente diferentes e sem parentesco numa determinada planta, ao contrário dos cultivadores tradicionais, que com cruzamentos manipulados transferem milhares de genes no processo.

Os maiores receios entre os pesquisadores estão no risco ecológico trazido pelas plantas geneticamente modificadas. O maior perigo é o do "fluxo de genes", a disseminação de genes por meio de pólen e sementes entre diferentes populações vegetais. Os genes circulam das safras para as ervas daninhas o tempo todo quando o pólen é transportado pelo vento, pelas abelhas ou por outros agentes polinizantes. Um gene para produção de inseticidas, como o do milho Bt, ou para a resistência a herbicidas, como o da soja *Roundup Ready*, poderia passar para um erva daninha, desencadeando um problema econômico e um desequilíbrio ecológico de proporções e consequências imprevisíveis. Estes genes poderiam proporcionar às ervas daninhas uma vantagem competitiva sobre as plantas convencionais, permitindo um crescimento descontrolado das mesmas.

Talvez um motivo maior de preocupação seja referente à evolução dos insetos. Plantas que produzem continuamente o inseticida Bt podem acelerar a evolução de insetos imunes a inseticidas.

Pesquisas conduzidas por pesquisadores norte americanos, sugeriram um aumento na mortalidade de borboletas monarca nos EUA após serem alimentadas com milho Bt. Apesar dos próprios pesquisadores terem alertado sobre falhas de controle na experiência, a comunidade científica ficou preocupada: e se uma determinada espécie de insetos ecologicamente benéfica (como agentes polinizantes) fosse extinta pela ação de vegetais geneticamente modificados?

Fora as preocupações ecológicas, há os eventuais riscos para a saúde humana. Em 1989, uma epidemia de síndrome de eosinofilia-mialgia (que provoca dor muscular e aumento dos leucócitos) causou a morte de 37 pessoas e a invalidez de outras 500 nos EUA. O FDA, agência americana que regula remédios e alimentos, ligou os casos a um complemento alimentar, o triptofano L, produzido por bactérias geneticamente modificadas. Os testes prévios realizados pelo fabricante, a empresa japonesa da ShowaDenko, não haviam detectado a capacidade de essa bactéria produzir um aminoácido extremamente tóxico.

Apesar disso, com a evolução dos testes, a maioria dos biólogos está hoje convencida de que OGM's são seguros para a saúde humana. Nos EUA, três órgãos federais regulamentam a produção de safras e alimentos geneticamente modificados. Dos três, o mais conhecido é o FDA (Food and Drugs Administration), que é referência para pesquisas alimentares em todo o mundo. A FDA analisa dados sobre alérgenos, toxicidade e níveis de nutrientes. Se esses dados mostrarem que os novos alimentos não são próximos aos convencionais, eles terão de ser submetidos a outros testes.

Entretanto, alguns cientistas ainda advertem que a utilização de transgênicos é muito recente, e pode haver problemas em longo prazo.

Os maiores receios são quanto à introdução de alérgenos nos alimentos geneticamente modificados. Existem relatos de casos fatais pela ingestão de alimentos transgênicos levando a choques anafiláticos. Outra suspeita, é de que os antibióticos usados como marcadores em experimentos de transgenia selecionem bactérias resistentes a antibióticos ou mesmo destruam os microorganismos benignos da micro-

flora intestinal. (Lembra disso? Junto com o transgene, coloca-se um gene para resistência a antibióticos. Aplica-se o antibiótico e as plantas que não aceitaram os transgenes morrem. Já as plantas transgênicas sobrevivem.) Os genes para resistência implantados no processo de marcação dos transgênicos podem inclusive ser transferidos para bactérias, tornando-as resistentes.

O uso de vírus como instrumentos de transferência de genes na biotecnologia também merece uma observação especial. Suspeita-se de que vírus "engenheirados" (um outro nome para geneticamente modificado) possam cruzar com vírus naturais, levando ao surgimento de novos vírus que podem trazer doenças à espécie humana ou a espécies de interesse agrícola ou pecuário.

Resumidamente, os riscos são:

- Fluxo de genes: plantas transgênicas podem transmitir seus genes modificados a variedades silvestres, e poderá ser difícil lidar com esses novos organismo resistentes a insetos e herbicidas.
- Seleção de insetos resistentes: plantas transgênicas podem acelerar o surgimento de insetos resistentes às toxinas Bt.
- Danos colaterais: o acúmulo de toxinas, como a Bt, no solo, poderá ter um efeito negativo sobre os ecossistemas. Efeitos sobre a saúde humana: alergênicos poderão ser introduzidos em alimentos.
- Resistência bacteriana a antibióticos: genes para resistência a antibióticos usados na marcação de plantas que receberam os transgenes podem ser transferidos para bactérias, ou o próprio antibiótico usado no processo de seleção dos vegetais geneticamente modificados pode selecionar as bactérias resistentes.
- Surgimento de novos vírus: vírus modificados podem cruzar com vírus naturais gerando novos vírus patogênicos.

Perceba que estes riscos são teóricos. Cientistas afirmam que a possibilidade real de um gene para a resistência a antibióticos em um transgênico ser transferido para uma bactéria é extremamente baixo. Se estes riscos vão ou não se tornar problemas reais, só o tempo irá responder.

Algumas críticas aos transgênicos são econômicas. Os grandes agricultores que podem comprar sementes transgênicas passariam a ter ainda mais vantagem sobre os pequenos produtores, que não têm condições de ficar comprando as sementes transgênicas a cada safra. (As empresas de biotecnologia tornam as sementes transgênicas estéreis para que os vegetais modificados não possam ser replantados: quem quiser plantar transgênicos, que compre delas. Esses caras são espertos, né?) Alguns pesquisadores rebatem estas críticas, afirmando que a mecanização da agricultura ou a irrigação em larga escala também são, muitas vezes, privilégios dos grandes fazendeiros.

**Tome nota:**

## TERAPIA GÊNICA OU GENETERAPIA

---

A terapia gênica, ou geneterapia, consiste em introduzir genes normais em pessoas que tenham o alelo que causa uma doença. As pesquisas nessa área ainda estão mais dirigidas para doenças da medula óssea vermelha e do sangue, como a imunodeficiência humana, causada pela deficiência de uma enzima em células sanguíneas e doenças que causam anemia grave (a talassemia e a anemia falciforme, por exemplo). Outras doenças que estão na mira da terapia gênica são a hemofilia A (pela falta de fator VIII), a fenilcetonúria, a hipercolesterolemia primária e a distrofia muscular.

Os genes envolvidos em algumas dessas doenças expressam-se em células da medula óssea vermelha. Coletam-se amostras da medula de pessoas afetadas por essas doenças e cultivam as células em laboratório. Nessas células que estão em meios de cultura, introduzem-se os alelos normais adicionando-se vírus clonados ou plasmídeos clonados. Essas células passam a produzir as proteínas que dão o fenótipo normal. Por ação da radiação, destroem-se as células da medula óssea do paciente e introduzem-se as células do meio de cultura com o gene normal. Com isso, o indivíduo não manifesta as doenças, enquanto essas células durarem.

As principais maneiras de introduzir genes em humanos nos casos de terapia gênica tem sido:

- **Técnica ex vivo:** consiste em usar um vetor, como um vírus modificado, que contenha o alelo normal. A seguir colhem-se glóbulos brancos (leucócitos) do sangue da pessoa afetada e permite-se que os vírus alterados infectem essas células em meio de cultura. Os vírus introduzem nos leucócitos o alelo normal e, assim modificados, os leucócitos são mantidos em meios propícios para a sua multiplicação. Depois são reintroduzidos no paciente, num processo semelhante a uma transfusão de sangue.
- **Técnica in vivo:** consiste na clonagem do alelo normal e de seu preparo para introdução no paciente, por meio de injeção na veia ou intramuscular. Com isso, o alelo normal incorpora-se às células do paciente e, dentro delas, passa a comandar a síntese da proteína normal

Na medida em que mais genes ligados a doenças iam sendo descobertos, os cientistas começaram a estudar a viabilidade de substituir os genes danificados ou enxertar os inexistentes.

Um grupo de cientistas do National Institute of Health (NIH), dos Estados Unidos, se concentrou numa grave disfunção imunológica conhecida como deficiência ADA, na qual as crianças afetadas não tem o gene da enzima adenosina desaminase. Sem ele, as toxinas se acumulam, envenenando as células sanguíneas, "Basicamente, essas crianças suicidam seus sistemas imunológicos", explica Blaese. Elas são obrigadas a viver num ambiente de isolamento completo para garantir a assepsia. Este é o caso de David, conhecido como o "menino da bolha", que morreu em 1984.

David não viveu o bastante para se beneficiar de uma terapia genética, mas o enfoque dado à deficiência ADA foi inspirada em casos como o dele. A equipe do NIH aproveitou um microorganismo conhecido como retrovírus, que não apenas tem a capacidade infectar células humanas, como a também a de inserir seu volume de informações genéticas na própria "biblioteca" de DNA da célula. Usando o vírus como uma espécie de "bíblia de contrabandista", os cientistas apagaram parte de seu texto genético e inseriram o gene da ADA, a enzima que faltava. A seguir, colheram glóbulos brancos do sangue de uma menina com a doença e permitiram que os vírus alterados infectassem as células, levando com eles o gene ausente. As células contaminadas multiplicaram-se para cerca de um bilhão e foram reintroduzidas na paciente, num processo semelhante ao de uma transfusão de sangue.

O experimento culminou no dia 14 de setembro de 1990. A paciente, uma menina de 4 anos chamada de Ashanti De Silva, sofria de infecções seguidas e era tratada com antibióticos com frequência. "Seu sistema imunológico funcionava muito mal", conta Blaese. As células alteradas foram injetadas na criança. Quase quatro horas depois, seu sistema imunológico funcionava normalmente. "Um ano após a terapia, os pais de Ashanti se convenceram de seu progresso e a matricularam num jardim de infância público", conta Blaese. "Hoje, ela já está no 1º Grau e muito bem de saúde".

Graças aos sucessos iniciais, a terapia gênica tornou-se uma das áreas mais "quentes" das pesquisas médicas na década de 90. No início de 1994, havia quase 70 abordagens experimentais distintas em andamento ou já aprovadas.

National Geographic Society, A aventura do conhecimento. O Estado de São Paulo.

É verdade que alguns dos genes transferidos para células humanas, desde 1990, estão produzindo proteínas úteis até hoje, o que é um resultado muito positivo. Apesar disso, nenhum dos testes trouxe a cura definitiva para os mais de 2 mil pacientes tratados. E, ainda mais importante, muitas experiências fracassaram, e continuam fracassando, sem que os pesquisadores tenham uma ideia muito clara sobre o motivo da falha. Os vírus usados como agentes de inoculação dos genes não estão muito bem "domesticados" ainda, podendo introduzir genes em locais errados do cromossomo, levando inclusive à ativação de genes causadores de câncer. Ou então o organismo do paciente tratado pode desenvolver uma resposta inflamatória a este vírus, o que em alguns casos se mostrou fatal.

Os estudos de terapia gênica estão até o momento restritos a células somáticas, mas pretende-se, em um futuro próximo, atuar sobre as células que formam os gametas de modo que o embrião não apresente mais o gene para a anomalia.

## DOPING GENÉTICO

---

Se é possível transferir genes para indivíduos doentes com o objetivo de corrigir problemas genéticos, seria possível transferir genes para pessoas saudáveis de modo a melhorar seu desempenho em determinada atividade? A resposta é sim, e a técnica em questão é denominada **doping genético**.

No *doping* genético, através de técnicas semelhantes à da terapia gênica, pode-se utilizar um vírus recombinante modificado com genes que melhorem o desempenho do indivíduo, como, por exemplo, genes que levem ao aumento de massa muscular.

Algumas substâncias produzidas pelo corpo estimulam naturalmente o crescimento muscular, como o fator de crescimento IGF-1 e a distrofina, enquanto outras substâncias inibem naturalmente esse crescimento, como a miostatina. Experiências feitas com animais, demonstraram que o uso de técnicas de geneterapia para adicionar cópias extras dos genes para a produção de IGF-1 ou distrofina ou genes que produzem substâncias que bloqueiam a ação da miostatina, podem levar a um aumento duradouro de massa muscular, sem que se deixe metabólitos secundários que possam ser detectados em exames anti-*doping* padrão.

É claro que os riscos envolvidos no *doping* genético são semelhantes aos da geneterapia, e não se sabe se humanos já foram submetidos a procedimentos do tipo, mas as implicações para o esporte são preocupantes, semelhantes àquelas que ocorre para o doping convencional, com o agravante da dificuldade de detecção do mesmo.



Touro geneticamente modificado com genes que codificam substâncias inibidoras da miostatina, levando a um grande aumento de massa muscular.

Tome nota:

## VACINAS DE DNA

---

Vacinas convencionais consistem de antígenos (substâncias orgânicas estranhas ao corpo) que são aplicadas em um indivíduo, o qual é estimulado a produzir anticorpos (proteínas de defesa), que circulam por algumas semanas no sangue, e células de memória, que podem ser ativadas para voltar a produzir anticorpos imediatamente, caso o antígeno reapareça, e que têm duração média de 10 anos.

Um problema com as vacinas convencionais é que os anticorpos produzidos só duram algumas poucas semanas, e mesmo as células de memória sendo facilmente ativadas para a produção de novos anticorpos, elas só duram alguns anos, o que implica em as vacinas não terem efeito por toda a vida.

**Vacinas de DNA** consistem na aplicação de um DNA recombinante (normalmente um plasmídeo) com genes que codificam o antígeno, de modo que, quando esses genes se expressam, o indivíduo passa a produzir o antígeno em questão, estimulando a produção de anticorpos e células de memória continuamente, ou seja, enquanto o DNA recombinante estiver ativo, o que se dá por toda a vida. Assim, vacinas de DNA têm a vantagem de manterem **altas quantidades de anticorpos** contra o antígeno circulando **por toda a vida** do indivíduo.

A principal dificuldade em relação às vacinas de DNA está na sua aplicação, uma vez que o DNA recombinante tem que ser aplicado dentro do núcleo das células, o que inviabiliza o uso de agulhas convencionais, tanto por serem muito grandes e não poderem entrar no núcleo, como pelo fato de que, mesmo que se conseguisse uma agulha suficientemente pequena, seria difícil aplicar o DNA recombinante no núcleo de um número adequado de células, milhões delas, para que se produzisse antígeno suficiente para estimular o sistema imune. Algumas técnicas que vêm sendo testadas incluem a aplicação dessas vacinas em um tipo de “*spray*” muito forte, que seria capaz de introduzir o DNA recombinante dentro de várias células quando aplicado sobre a pele. Isso implicaria em aplicar o DNA recombinante de modo aleatório, ficando parte dele em citoplasmas e espaços intercelulares, onde não teria utilidade, mas permitiria que certa quantidade de DNA recombinante entrasse no núcleo de várias células, onde seria capaz de se expressar.

Note que, ao receber uma vacina de DNA, um indivíduo seria não apenas geneticamente modificado como transgênico, uma vez que receberia em si o gene de um agente causador de doença, como um vírus ou bactéria e, portanto, de outra espécie. É importante que esse gene expresse um antígeno que não seja tóxico ao indivíduo, uma vez que esse antígeno, como mencionado, será produzido por toda a vida a partir da aplicação da vacina de DNA.