

# Introdução



A clonagem é um processo de reprodução assexuada, onde são obtidos indivíduos geneticamente iguais (microorganismo, vegetal ou animal) a partir de uma célula-mãe.



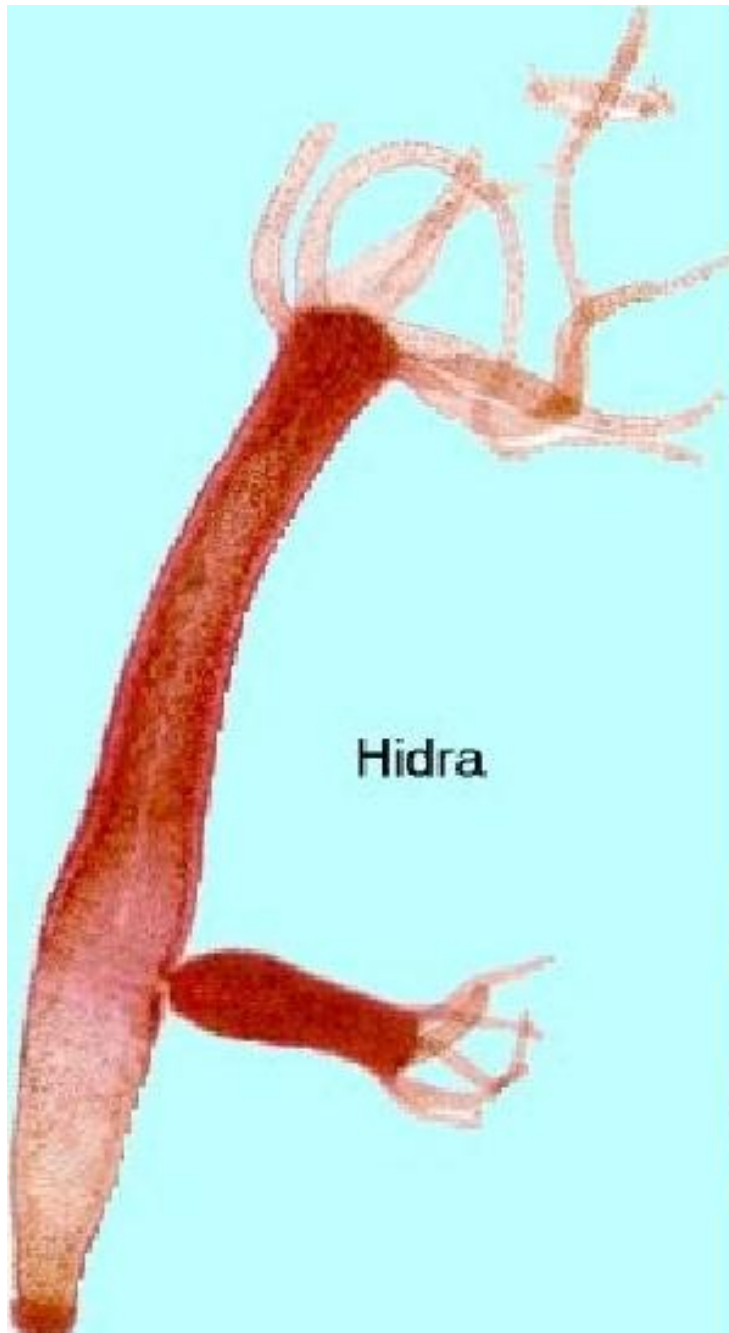
**Clonagem...** Palavra recente para designar algo muito antigo.

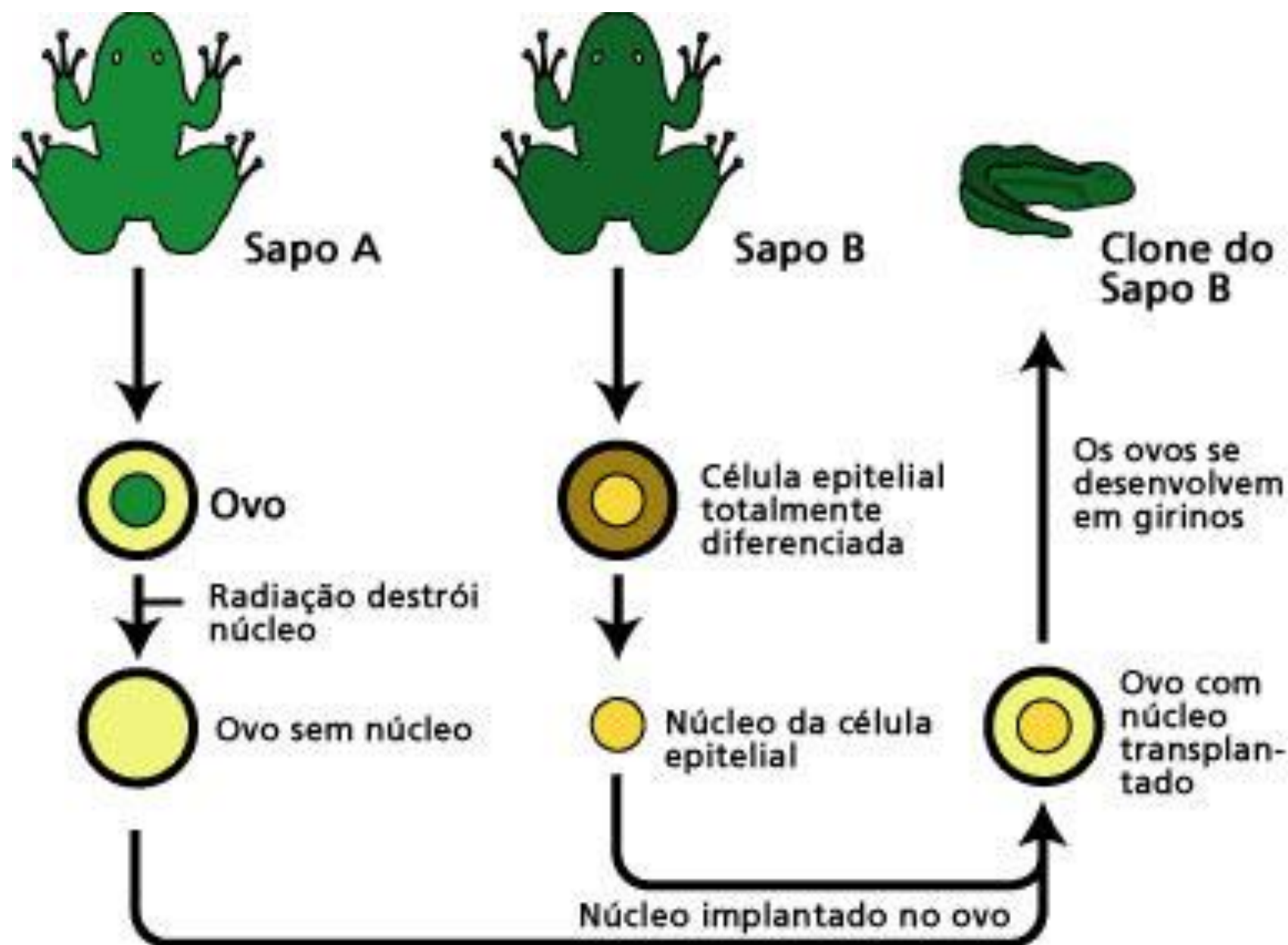
A palavra *Clone* foi criada em Biologia para designar indivíduos que se originam de outros, por reprodução assexuada.

A *clonagem*, que significa *formação de clones*, é o meio de reprodução mais frequente e natural dos vegetais inferiores, havendo algumas plantas que também se podem multiplicar desse modo.

Plantas como a *bananeira* e a *videira*, apenas se multiplicam por clonagem

Alguns animais, como a *hidra de água doce*, também utilizam a clonagem na sua reprodução.



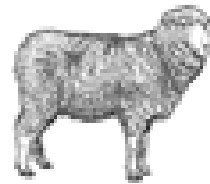




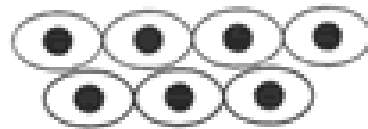
# Tipos de Clonagem

- Clonagem natural (quando ocorre por reprodução assexuada)
- Clonagem induzida artificialmente (reprodução assexuada produzida em laboratório, de modo artificial)
- Clonagem reprodutiva (uso da técnica 'transferência nuclear da célula somática' para clonar animais através de células embrionárias  
→ caso da ovelha Dolly)

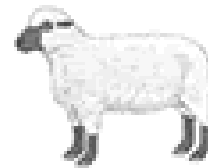
Ovelha Finn Dorset



Remoção das  
células mamárias



Ovelha Scottish Blackface



Óvulo



Remoção  
do núcleo  
do óvulo

Óvulo  
anuclear



Eletrofusão



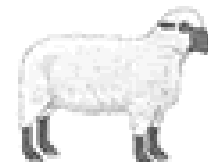
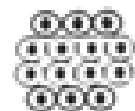
Fusão



Célula reconstruída com o  
citoplasma da Scottish  
Blackface e o núcleo da  
Finn Dorset



Embrião após  
6 dias de  
desenvolvimento



Implante do embrião no útero  
de ovelha "barriga de aluguel"  
da raça Scottish Blackface

Dolly - uma ovelha  
Finn Dorset

# Clonagem

A clonagem humana para fins reprodutivos, que é a clonagem com a finalidade de obtenção de um indivíduo não é permitida por lei.

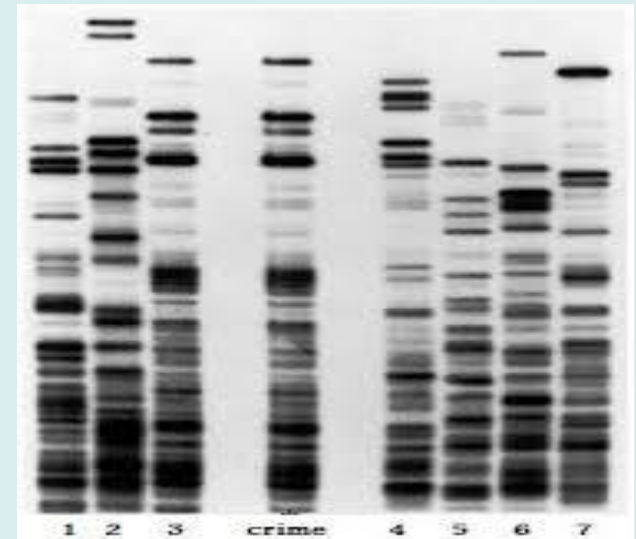
Clonagem terapêutica – finalidade de produção de células-tronco embrionárias para utilização terapêutica é permitida.

É importante lembrar que não se clonam indivíduos, mas sim **genomas**.

# A identificação individual por meio do DNA

Dois indivíduos sempre apresentarão diferenças em seus DNAs (exceto no caso de gêmeos idênticos e dos clones), é possível utilizar a análise do DNA para determinar a identidade de uma pessoa ou de um animal em particular.

Essa particularidade no perfil genético de cada um de nós recebe o nome de **impressão digital de DNA (DNA fingerprint)**.



# A identificação individual por meio do DNA

Importante aplicação da técnica: determinação da paternidade pela comparação dos padrões do DNA da mãe, da criança e de seus prováveis pais. Para isso, colhem-se amostras de sangue dos envolvidos e delas obtém o DNA a ser testado.

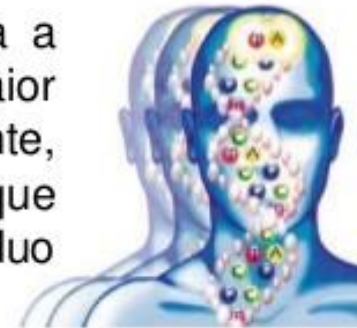
Além disso: identificar organismos que causam doenças e para resolver crimes.

Apenas uma amostra de células é necessária para a identificação do DNA. Uma gota de sangue, saliva, sêmen, células da pele ou da raiz do cabelo contêm DNA suficiente para os testes.



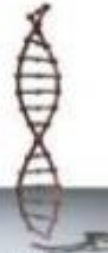
# A identificação individual por meio do DNA

Estas regiões estão presentes ao longo de toda a molécula de DNA. Na verdade, existem em maior número que as regiões gênicas e, curiosamente, apresentam **sequências polimórficas**, isto é, que apresentam diferenças, variando de um indivíduo para outro.

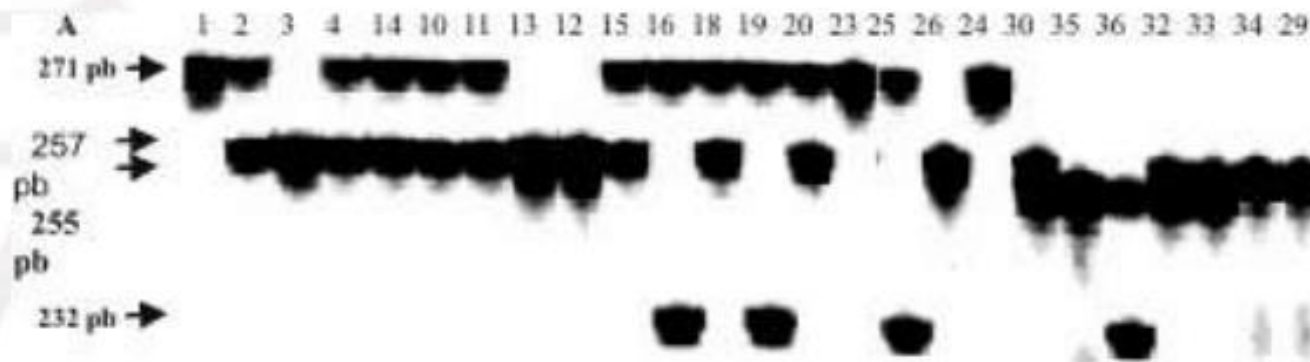


# A identificação individual por meio do DNA

## SEQUÊNCIAS POLIMÓRFICAS



Nos faz únicos, funcionando como impressões digitais do DNA e, portanto, servem para nos identificar e identificar nossa origem, tanto materna como paterna, uma vez que são herdadas e transmitidas de pais para filhos, da mesma forma que os genes.



# A identificação individual por meio do DNA

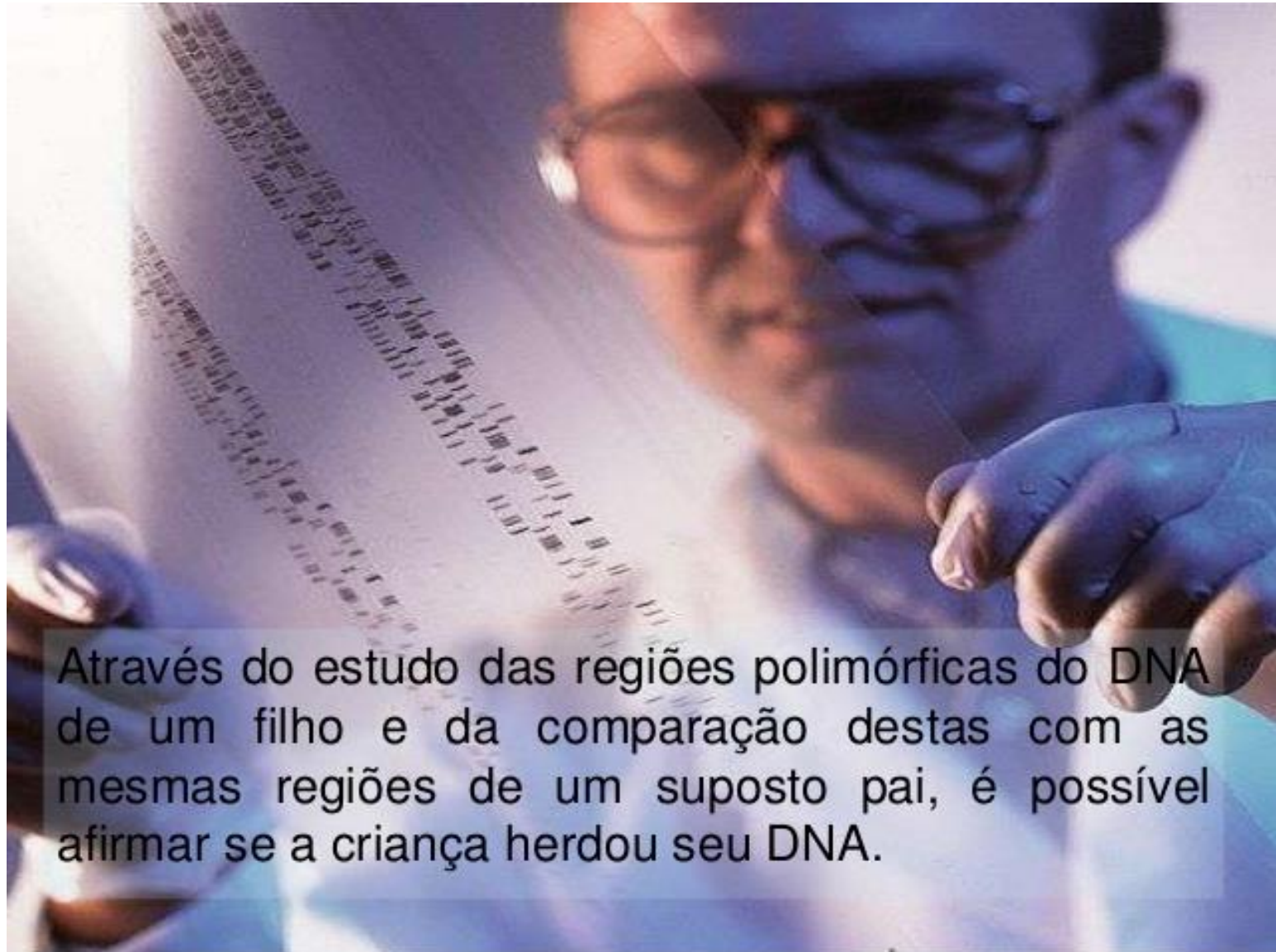
## Regiões polimórficas do tipo VNTR

Uma fração de DNA repetido consiste de regiões denominadas minissatélites ou repetição em tandem de número variável (VNTR – “variable number of tandem repeats”). Os VNTRs exibem uma enorme variabilidade e são constituídos de 9 à 100 pares de bases repetidos sequencialmente em loci cromossômicos.

As primeiras sequências VNTR descritas tiveram aplicação imediata na área forense, assim como no auxílio ao mapeamento do genoma humano. O termo “DNA fingerprint”, ou perfil de DNA, foi inicialmente concebido por Alec Jeffreys em 1985. O termo demonstra a alta variabilidade destas regiões do genoma, de maneira que seja improvável a existência de dois indivíduos com o mesmo perfil genético, a não ser no caso de gêmeos univitelinos.

Indivíduos podem ser diferenciados pelo comprimento de seqüências VNTR do DNA gerados após a ação de uma enzima de restrição.

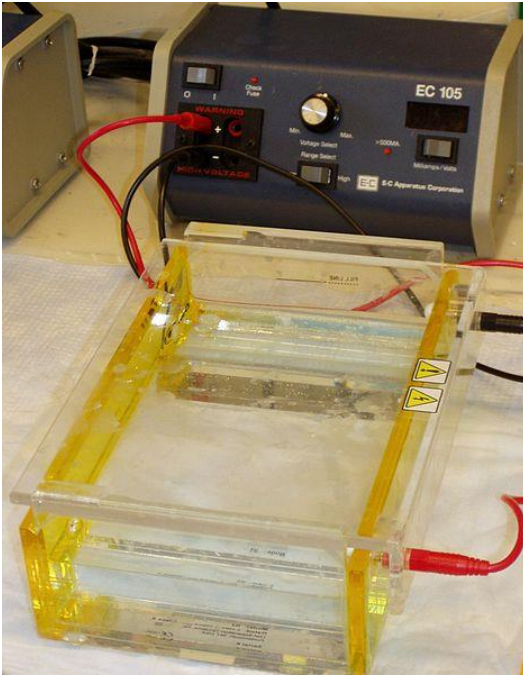
# A identificação individual por meio do DNA



Através do estudo das regiões polimórficas do DNA de um filho e da comparação destas com as mesmas regiões de um suposto pai, é possível afirmar se a criança herdou seu DNA.



# A técnica de eletroforese em gel



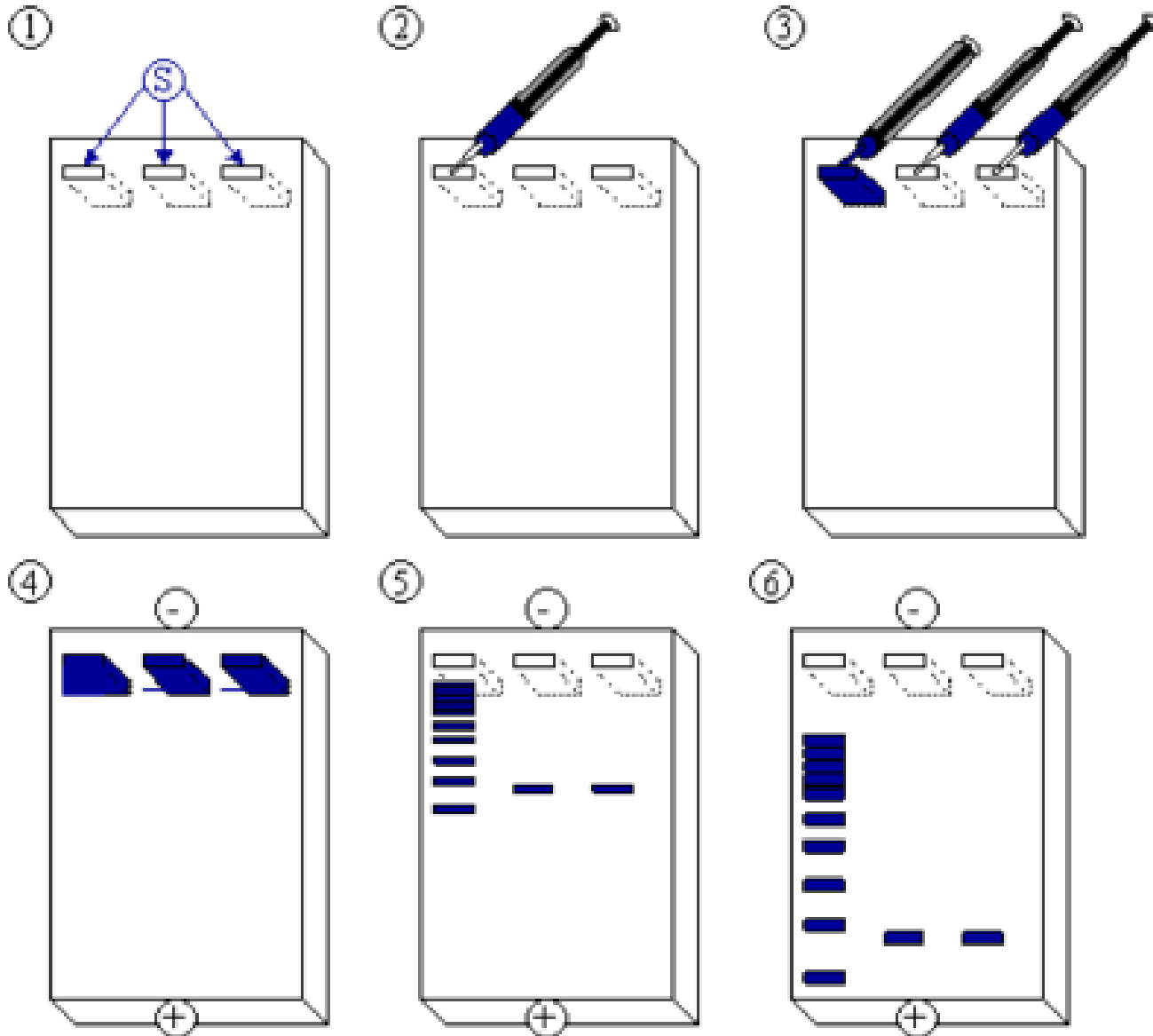
Equipamento para eletroforese em gel

- As amostras dos envolvidos são tratadas com endonucleases de restrição;
- Depois, são colocadas em uma mesma placa de gel e tratadas com uma sonda que revela certos tipos de VNTR;
- O resultado é um padrão de faixas mostrado como um filme.

***Com exceção dos gêmeos univitelínicos, cada pessoa tem um padrão específico de repetições herdados dos pais.***



# A técnica de eletroforese em gel



# A técnica de eletroforese em gel

**1-** Submetem-se fragmentos de DNA em uma placa contendo gel de algarose (carboidrato extraído da parede celular de algas) que recebe uma corrente elétrica;

**2-** Os fragmentos de DNA percorrem o gel e se deslocam em direção ao polo elétrico positivo (os menores se movimentam mais rapidamente que os maiores).

**3-** Quando a corrente elétrica é desligada, os fragmentos param em posições diversas em forma de bandas ou faixas.

**4-** Aplica-se brometo de etídio ( $C_{21}H_2OBrN_3$ ) – corante que adere ao DNA – que, quando iluminado com raios ultravioletas, fluoresce e possibilita a visualização das bandas de DNA.

# A técnica de eletroforese em gel

## Como funciona ?

Basicamente consiste em aplicar um gel que servirá como matriz para separar diferentes moléculas através do seu peso molecular por meio da aplicação de um campo elétrico. Cada mistura de DNA ou proteínas é colocada em poços diferentes do gel, e o gel é então colocado em placas de vidros que contém soluções tampões onde é submetido à diferença de potencial. Moléculas de pequeno peso molecular irão migrar para o pólo oposto mais rapidamente que moléculas maiores.



Gel de eletroforese. Note as bandas marcadas (Foto: PNNL - Pacific Northwest National Laboratory)

# A técnica de eletroforese em gel



**Eletroforese e o DNA.**

# A identificação individual por meio do DNA

Inúmeros casos policiais já foram esclarecidos com a identificação de criminosos que deixaram algum material (pelos, sangue, pedaço de pele, esperma) nas vítimas ou no local do crime.

Essas pequenas amostras são submetidas à técnica da **PCR (reação polimerase em cadeia)**, que aumenta em milhares de vezes o número de filamentos de DNA, para que seja possível a eletroforese em gel.



# PCR: Técnica em reação de cadeia polimerase

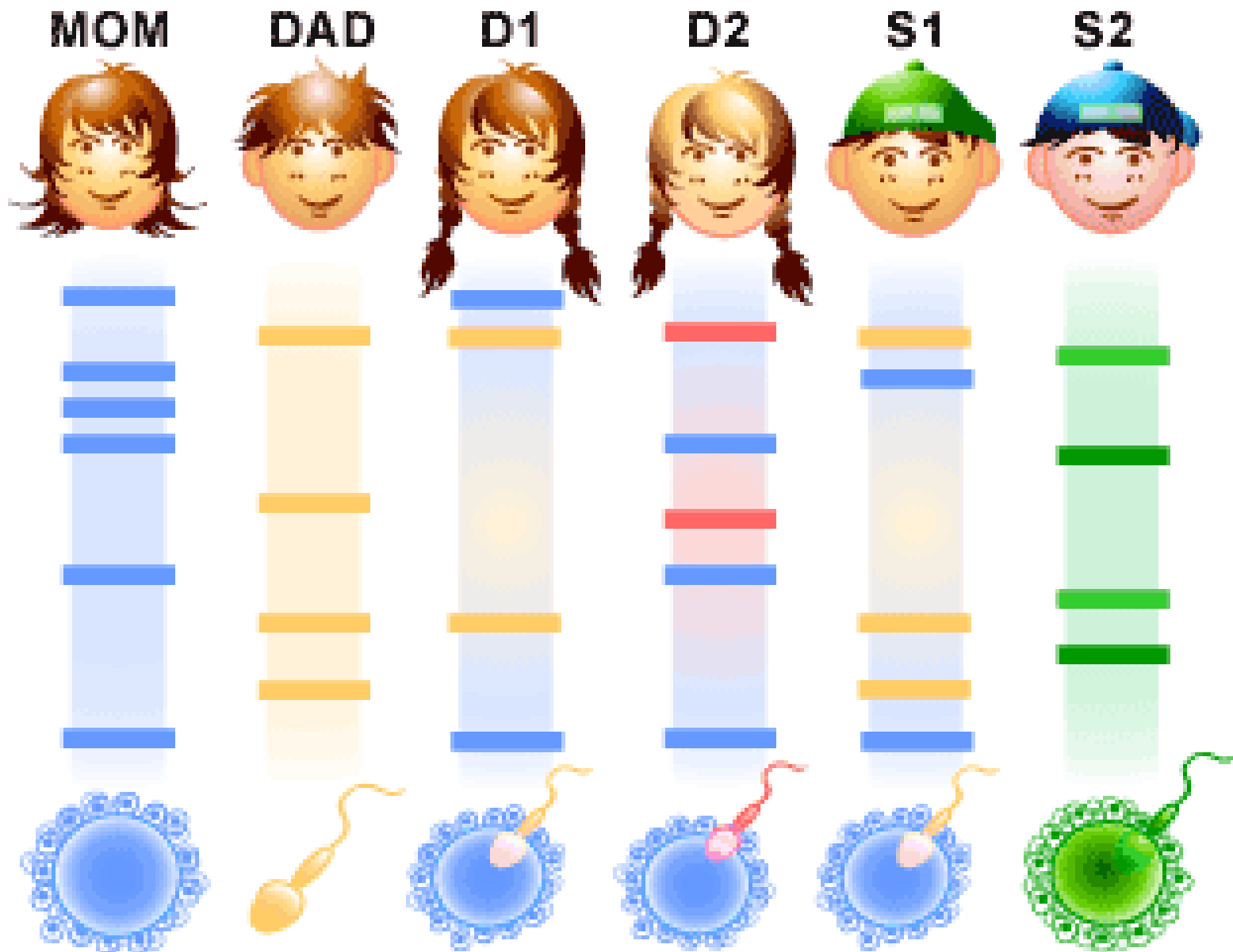
*E quando a amostra biológica contendo fragmentos de DNA não é suficiente para a realização de análises?*

A técnica da **PCR** (*Polimerase Chain Reaction*) foi desenvolvida em 1985, pelo cientista Kary Mullis (prêmio Nobel em Química, 1993). O objetivo dessa técnica é fazer cópias de trechos de **DNA *in vitro***, usando **polimerases do DNA**.

Nesse caso, o DNA, ao ser analisado, passa pelos seguintes processos:

- É submetido a altas temperaturas (cerca de 94 °C por minuto);
- Ocorre, então, a separação da dupla hélice;
- Com a temperatura mais baixa, são empregadas as polimerases que atuam completando os pares de bases de cada hélice separada;
- Dessa maneira, de uma molécula de DNA, formam-se duas.

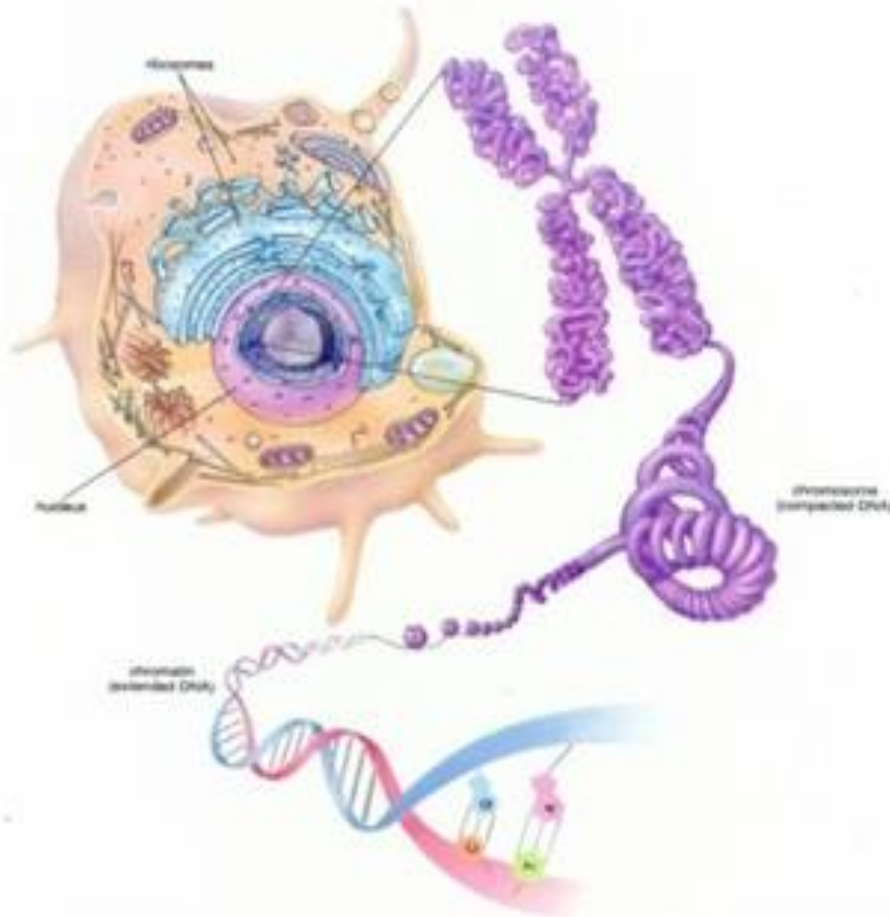
# EXEMPLO



# Projeto Genoma Humano

## Genoma

- Conjunto de todo o material genético presente em cada célula do organismo.



# "TimeLine" – História do PGH (Resumo)



1985

Robert Sinsheimer realiza uma reunião na Universidade da Califórnia e propõe o sequenciamento do Genoma Humano.



1992

Craig Venter desenvolve método de sequenciar genes e torna-se presidente da Celera Genomics.



2000

Consórcio do PGH e Celera Genomics anunciam seus trabalhos – Rascunho do código genético Humano



1990

Início oficial do Projeto Genoma Humano, com participação de pesquisadores americanos e europeus.



1995

Sequenciamento completo do genoma da bactéria *Haemophilus influenzae*.



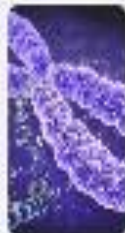
2001

Science e Nature



1992

Francis Collins assume a liderança do PGH após saída de Watson.



1999

Primeiro cromossomo humano completamente sequenciado.

Projeto Genoma Humano



2003

14 de Abril - PGH é encerrado.

# Projeto Genoma Humano



U.S. DEPARTMENT OF  
**ENERGY**

Proposto pelo Departamento de Energia dos EUA, interessado em desvendar os efeitos da radiação no DNA



Investimento: 3 bilhões de dólares  
1 dólar por nucleotídeo sequenciado



Início do projeto: 1990  
Previsão de término: 2005  
Publicação da primeira versão: 2001  
Conclusão: 2003



Genoma humano: **3 bilhões de nucleotídeos**

Mais de 1000 vezes maior que os maiores  
genomas sequenciados na época!



Participação de universidades do mundo todo,  
especialmente EUA, Reino Unido, Japão, França,  
Alemanha e China

## 13 anos após o projeto...

Sequenciamento de um genoma humano:  
- Pode ser feito em uma semana por 1000 dólares

Estudos pretendem sequenciar 1000 humanos para estudar  
as variações dentro de nossa espécie







# Projeto Genoma Humano

## Brasil:

- O primeiro projeto brasileiro decifrou o material genético da bactéria *Xylella fastidiosa*.
- O projeto foi concluído em novembro de 1999 e o país entrou para a história pelo primeiro seqüenciamento de um fitopatógeno de importância econômica.



# Projeto Genoma Humano

O **Projeto Genoma Humano (PGH)** foi um dos grandes feitos da história da Genética e sua conclusão se deu em abril de 2003. Com a utilização de tecnologias muito sofisticadas, foi possível mapear o DNA humano em 99,99%. São aplicações do PGH:

Identificação de genes que causam ou predisõem doenças genéticas e câncer.

Identificação de genes que predisõem doenças metabólicas como diabetes.

No aconselhamento genético, análise das chances de um casal ter filhos portadores de anomalias hereditárias.

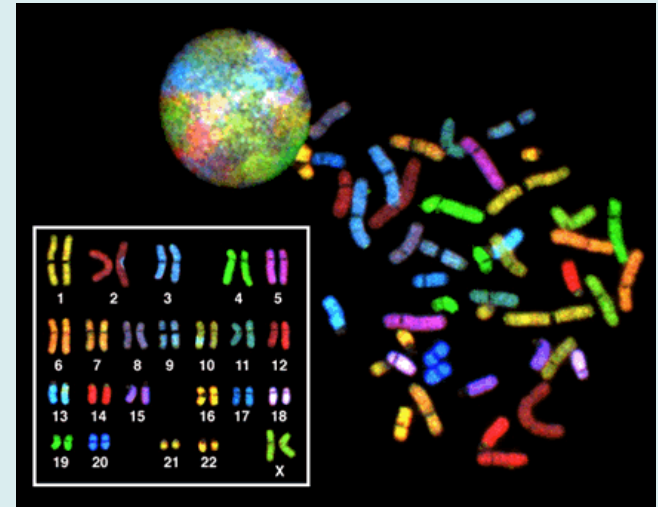
Produção de remédios que atuam com mais eficácia e de forma específica.

**A conclusão do Projeto Genoma Humano é mais um passo importante para se identificar o funcionamento de cada gene, de cada proteína.**

**Será que a ciência vai ser capaz de prever o futuro?**

A identificação do genoma humano abriu um leque de discussões sobre incertezas éticas e legais, a respeito do uso da informação do código genético de uma pessoa para determinados fins. Assim, é necessário

- privacidade de informações;
- segurança e eficácia dos testes genéticos;
- justiça no uso da informação.



Cariótipo humano normal: conjunto de cromossomos de uma pessoa do sexo masculino.