

# BIOTECNOLOGIA

### Convite ao estudo

Nesta unidade, vamos iniciar um estudo mais detalhado sobre a Biotecnologia e suas aplicações.

A competência geral desta disciplina é conhecer e ser capaz de aplicar aos diferentes contextos as principais técnicas de Biologia Molecular e Biotecnologia. A competência técnica está relacionada a conhecer os procedimentos para clonagem e sequenciamento de DNA, as técnicas de análise de DNA, RNA e proteínas. Já os objetivos estão centrados em entender o conceito da biotecnologia e suas aplicações nos diversos setores da saúde, agricultura, genética, bioinformática, meio ambiente, dentre outras aplicações.

Em cada seção desta unidade vamos trabalhar com a Biotecnologia e suas variadas aplicações. Veremos como essa variedade de conceitos pode estar relacionada com as situações diárias e como a Biotecnologia pode ajudar você a entender o conteúdo desta unidade e resolver as situações-problema com o auxílio de materiais pedagógicos, como: o livro didático, a webaula e as leituras que serão sugeridas.

Então vamos lá!

Bons estudos!



## Seção 4.1

### Biotecnologia e suas definições

#### Diálogo aberto

Denise pertence a um grupo de pesquisa de uma universidade e realizou importantes estudos que envolvem a Biologia Molecular e a Biotecnologia. Devido ao fato de seu grupo de pesquisa ter obtido resultados muito importantes na aplicação da Biotecnologia, a docente/pesquisadora foi convidada para apresentar seus dados em um congresso internacional. Sendo assim, vamos acompanhar os importantes assuntos que serão abordados nos trabalhos do grupo de pesquisa de Denise sobre a Biotecnologia e a Biologia Molecular, discutindo as aplicações dos resultados encontrados.

Dentre as diferentes áreas de pesquisa que a professora Denise trabalha, uma delas se destacou no estudo de espécies de plantas medicinais que podem ser usadas no organismo humano sem ter efeitos colaterais. Durante o desenvolvimento de sua pesquisa, Denise e sua equipe foram muito elogiados com relação aos resultados que obtiveram. Eles conseguiram descobrir um novo fármaco de importância no tratamento do câncer. Mas qual a importância desse tipo de estudo? Quais técnicas podem ser usadas para se trabalhar com esse assunto? Quais as repercussões desses resultados?

Os conteúdos envolvidos nesta seção irão ajudar a pensar na importância da Biotecnologia e da Biologia Molecular relacionada ao entendimento das aplicações da biotecnologia na saúde e no meio ambiente.

#### Não pode faltar

O termo “Biotecnologia” pode ser definido como sendo a aplicação de princípios científicos e tecnológicos, envolvendo o processamento de diversos materiais por parte dos agentes biológicos, tendo em vista a aplicabilidade de tecnologia e inovações biotecnológicas voltadas para a melhora do meio ambiente, da saúde das pessoas e da proposta de gerar produtos a partir de matérias-primas que receberam a adição de materiais vivos.

Para que você entenda um pouco mais sobre a Biotecnologia e suas aplicações, podemos dividir o foco desse assunto em três aspectos principais:

I. A preparação da matéria-prima para ser utilizada como fonte para os microrganismos.

II. O processo de fermentação do material em biorreatores, obtendo-se a biotransformação e produção do material desejado.

III. Purificação do produto final.

O objetivo principal da Biotecnologia é a obtenção de um determinado produto em escalas industriais, ou seja, em grande quantidade. Assim, a maioria das pesquisas sempre são realizadas para melhorar e aperfeiçoar os três aspectos que citamos para que haja o desenvolvimento da tecnologia. Sabendo que a Biotecnologia possui essa importante finalidade, vale afirmar que a evolução desse conhecimento se deu pelo fato de que vários investimentos iniciais foram realizados trabalhando com desenhos de novos biorreatores, assim como também controlando e monitorando os processos fermentativos. Apesar de sabermos que é desta forma que se consegue um aumento de produção significativo, faz-se necessária a otimização do processo de biotransformação, ponto de fundamental importância da Biotecnologia.

Em um determinado estudo que envolve linhagens variadas de microrganismos capazes de sintetizar produtos de interesse biotecnológico, sabe-se que se tem em "mãos" um material de interesse tecnológico, fazendo com que determinada produção aconteça em níveis correlacionados com uma escala de porte industrial. Não podemos nos esquecer de que algumas vezes pode ocorrer o efeito de mutações aleatórias induzidas por agentes químicos mutagênicos ou ainda por radiação ultravioleta, aumentando os níveis de produção dessa escala. Contudo, deve-se tomar um relativo cuidado com este fato de se modificar geneticamente diferentes organismos, pois o alcance das mutações afeta não só a característica desejada, mas, também, outras importantes vias do metabolismo celular, podendo ser muito prejudicial para a saúde e para o meio ambiente.

Assim, além do efeito indesejado, o processo de obtenção de linhagens é demorado, pois há o envolvimento da expressão de proteínas de interesse terapêutico, ou de aplicação biológica, havendo a necessidade de selecionar e testar os descendentes até que se chegue à amostra esperada, aumentando o tempo e, conseqüentemente, os custos com esse trabalho. Também pode haver a necessidade da realização de pesquisas com diversos outros microrganismos para que se descubra quais proteínas eles também expressam, e para que seja feito um estudo comparativo, chegando a um resultado esperado.

A revolução da Biotecnologia tradicional chegou até nós através do

desenvolvimento da tecnologia do DNA recombinante, o que envolve um conhecimento multidisciplinar sobre a biologia celular, a genética, a bioquímica, a biologia molecular, a genética molecular e outras áreas de aplicabilidade, como a área clínica, agrícola, entre outras. Além da sabedoria de microbiologistas e engenheiros químicos e agrônomos em se tratando de escala industrial, a tecnologia do DNA recombinante trabalha com as descobertas que vieram da biologia molecular e da genética. Desta união, então, aparece uma nova área de investimento tecnológico conhecida como “biotecnologia molecular”.

Portanto, podemos dizer que a biotecnologia explora processos celulares e biomoleculares para que se desenvolvam tecnologias e produtos variados que podem favorecer a melhora da qualidade de vida. Vale ressaltar que essa área de conhecimento já existe há mais de 6.000 anos, no entanto, hoje, a inovação tecnológica contribui para combater doenças, usar energia mais limpa e em menor quantidade, gerar alimentos, além de favorecer processos industriais mais seguros, limpos e eficientes.

## A Biotecnologia

Você já deve ter notado que a Biotecnologia é uma área de conhecimento bastante sábia, pois aproveita os recursos da própria natureza e a composição genética dos seres humanos para poder orientar diferentes áreas da pesquisa que irão ajudar a: diminuir as taxas das doenças infecciosas, bem como os riscos para nossa saúde, favorecendo a detecção de doenças e a ajuda necessária para lutar contra diversas doenças graves e outras ameaças do dia a dia. Assim, o uso de mecanismos biológicos para melhorar os processos de produção industrial é considerado um benefício para a biotecnologia.

Os setores da Biotecnologia são vários e incluem diferentes produtos úteis nas áreas de energia, medicina, saúde, serviços, meio ambiente e produtos agroindustriais. São eles:

**1. Setor de Bioenergia e de Biocombustíveis:** a tecnologia de produção de enzimas e do etanol de segunda geração (etanol celulósico), bem como as enzimas de tecnologia de produção para fabricar biocombustíveis são importantes produtos que visam ao uso racional da energia e dos combustíveis para confeccionar produtos que agredem menos o meio ambiente e a saúde das pessoas. O biocombustível é aquele de origem biológica não fóssil. Normalmente é obtido por uma ou mais plantas e é fabricado em escala comercial a partir de produtos agrícolas, como cana-de-açúcar, soja, canola, babaçu, mandioca, milho, beterraba, algas, mamona, entre outros. Podemos citar vários exemplos de biocombustíveis, tais como o álcool etanol, a biomassa ou o biodiesel.

**2. Setor de Medicina e Saúde:** este setor atua no desenvolvimento tecnológico de proteínas recombinantes, no uso de biomateriais para reparar, regenerar e reconstruir o tecido ósseo e, conseqüentemente, os órgãos. Há ainda o uso de biomateriais para usos dermatológicos e cosméticos. Utiliza reagentes para diagnóstico em laboratório usando radiomarcadores ou radiofármacos em ensaios de imunoquímica, imunoensaio, citometria de fluxo, determinando as condições clínicas de um paciente, por exemplo. Por fim, atua na construção de vacinas na terapia celular e aquelas que tentam destruir células cancerígenas, vacinas humanas, kits de diagnóstico de diversas patologias, entre outras coisas.

**3. Setor da Saúde Animal:** foca na confecção de produtos de nutrição e saúde para animais, nos processos biotecnológicos úteis para diagnóstico e tratamento da saúde animal e na produção de vacinas animais e vacinas humanas.

**4. Setor de Biofármacos:** os usos de proteínas recombinantes, assim como a tecnologia de produção de insulina humana e de outras proteínas terapêuticas, são de grande importância na saúde humana. Os componentes biotecnológicos funcionam como anticorpos monoclonais para uso no tratamento do câncer e anticorpos para uso clínico que são considerados essenciais na terapêutica e nos diagnósticos usados hoje em dia.

**5. Diferentes Setores de Serviços:** os ensaios clínicos que validam ou aprovam novos medicamentos, o apoio de serviços de pesquisa por agências estaduais e federais e a produção e comercialização de produtos oriundos da Biotecnologia são importantes meios usados no tratamento e diagnóstico de doenças. Nas indústrias agrícolas são destacados os polímeros biodegradáveis e biocompatíveis, mais conhecidos e promissores como PHB e PHB-HV. São verdadeiramente plásticos biodegradáveis gerados a partir da cana-de-açúcar. Há ainda a importância da genômica, pós-genômica e da proteômica e a expressão heteróloga e a clonagem de proteínas, assim como novas tecnologias na criação de animais e vegetais.

**6. Setores de Indústrias Agrícolas:** a grande importância da Biotecnologia agrícola e a melhoria da qualidade de alimentos e dos produtos nutracêuticos ou alimentos que são verdadeiros medicamentos têm a capacidade de proporcionar benefícios à saúde, como a prevenção e o tratamento de doenças. Há ainda a função de bactérias fixadoras de nitrogênio.



### Assimile

A fixação biológica do nitrogênio promove vários benefícios para os cultivos agrícolas, dentre os quais destacam-se:

1. Um menor uso de adubos nitrogenados, resultando em economia para o produtor.

2. A contribuição para um autofornecimento do nitrogênio utilizado para o metabolismo da planta, diminuindo os impactos do nitrogênio sobre o meio ambiente.

3. Uso de plantas conhecidas como leguminosas que seriam como adubos verdes eficientes para fornecer nitrogênio para o solo e melhorar suas propriedades físicas, químicas e biológicas, havendo o aumento de produtividade no solo, incluindo aqueles com deficiência de nitrogênio disponível.

AGEITEC. **Fixação biológica do nitrogênio.** Disponível em: <[http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/cana-de-acucar/arvore/CONTAG01\\_31\\_711200516717.html](http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/cana-de-acucar/arvore/CONTAG01_31_711200516717.html)>. Acesso: 3 abr. 2016.

**7. Setores do Meio Ambiente:** a biorremediação é um processo no qual os organismos vivos como os fungos, algas, plantas ou suas enzimas são usados para remover ou diminuir as contaminações no ambiente. Utiliza processos biodegradáveis para tratamento de resíduos, sendo capaz de favorecer a regeneração do equilíbrio do ecossistema original. Pode trabalhar com o aproveitamento de resíduos e métodos para que seja feito o controle biológico de pragas. Além disso, com a bioprospecção é possível extrair um conteúdo de valor econômico da biodiversidade, formando um patrimônio genético muito rico. Ainda seria a busca sistemática por organismos, genes, enzimas, compostos, processos e partes obtidas de seres vivos, que tenham um potencial econômico e que possa levar ao desenvolvimento de um produto. Pode-se trabalhar ainda com o tratamento de água, gerenciamento de resíduos sólidos e resíduos industriais.



### Exemplificando

As plantas medicinais que são encontradas na natureza são uma matéria-prima que pode ser transformada em medicamento. Desta forma, esse é um exemplo de potencial terapêutico que, se bem aproveitado, pode prevenir e ou curar doenças. Quando administrado na dose correta, não deve apresentar efeitos colaterais, trazendo muitos benefícios para a saúde humana.



### Refleta

No ano de 2003, estimava-se que aproximadamente 40% dos medicamentos disponíveis no mercado eram obtidos a partir de fontes naturais, sendo que 25% seriam de plantas, 13% de microrganismos e, por fim, 3% a partir de animais. Hoje em dia, esses números aumentaram

cerca de 50%, sendo que, quando se trata de medicamentos envolvidos com o tratamento do câncer, estima-se que a grande maioria desses medicamentos sejam obtidos de produtos naturais, advindos de organismos marinhos e terrestres. Considerando ainda a grande quantidade de fármacos atuais que foram desenvolvidos a partir de moléculas biológicas, torna-se extremamente importante o papel da bioprospecção na área da farmacologia. Você já pensou na importância desse arsenal terapêutico que temos à disposição? Pense e reflita a importância desse assunto para nossas vidas.



### Pesquise mais

Para aprofundar o assunto a respeito da importância da bioprospecção (conceitos e normas), do envolvimento da biodiversidade, do patrimônio genético, entre outros assuntos, acesse o link:

UFRGS. **Bioprospecção**. Disponível em: <<http://www.ufrgs.br/patrimoniogenetico/conceitos-e-definicoes/bioprospeccao>>. Acesso em: 3 abr. 2016.



### Faça você mesmo

Busque trazer exemplos em que a Biotecnologia aplicada no setor de bioenergia e de biocombustíveis possa trazer benefícios para o meio ambiente e, consequentemente, para a saúde das pessoas.

### Sem medo de errar

O fármaco que a equipe de pesquisa comandada pela professora Denise identificou foi um medicamento que inibe o crescimento de células tumorais, sendo então um importante aliado para o tratamento do câncer. As técnicas usadas para obtenção desse fármaco foram: técnica de *western blotting*, na preparação da amostra, SDS-PAGE, membrana bloqueio, sondagem com anticorpos e detecção. Para cada etapa do processo foram usados os protocolos e reagentes apropriados para que a equipe conseguisse atingir os resultados de alta qualidade, determinando o componente antineoplásico. A grande importância é que, como os efeitos colaterais são praticamente nulos, os pacientes terão melhor qualidade de vida, conseguindo se alimentar e lutar de forma positiva contra a doença. Assim, a indústria se propôs a fabricar lotes desse medicamento para que logo possa ser comercializado para pacientes que esperam há anos um tratamento eficaz para essa patologia.



**Atenção!**

Você sabia que existe uma carreira de Biotecnologia? Já ouviu falar?

O profissional formado em Biotecnologia pode aplicar novas tecnologias em diferentes áreas, como: saúde, alimentação, ambiental e química. Quais seriam as aplicações dessa carreira com relação ao mercado de trabalho?

- Você pode trabalhar na busca de novos tipos e variedades de plantas que são consideradas mais resistentes a determinado tratamento, ou herbicida, dificultando sanar problemas da agricultura.
- Pode entender sobre a utilização de microrganismos na produção de produtos úteis à saúde do ser humano.
- Desenvolve técnicas para que se consiga combater microrganismos que são considerados prejudiciais ao ser humano.
- Pesquisa os efeitos e reações adversas que podem ser encontrados em medicamentos e substâncias químicas que atuam em células do organismo humano.
- Entende a importância do melhoramento genético para obtenção de novos produtos que sejam viáveis na agricultura, na saúde do homem e dos animais.
- Associa o emprego de microrganismos com a prevenção de doenças na produção de vacinas e medicamentos.
- Controla o crescimento microbiano que pode acontecer em indústrias alimentícias e farmacêuticas, prejudicando a fabricação de produtos que seriam tóxicos ao organismo humano.
- Pode ser atuante na avaliação e na prevenção da contaminação do solo e da água.
- Aprimora técnicas que possam combater pragas e doenças em animais e na agricultura.
- Desenvolve novos processos biotecnológicos para o aprimoramento da agricultura.



### Lembre-se

O biotecnologista irá atuar no mercado de trabalho não apenas como um cientista, mas como um profissional com qualificação e que tenha interesse em desenvolver produtos. Assim poderá aproveitar, por exemplo, a biodiversidade brasileira, que talvez seja a maior do mundo, porém poucas vezes isso transformou-se em produto.

## Avançando na prática



### Lembre-se

Antes de começar a ler a situação-problema a seguir é importante que você tenha em mente os conceitos da biotecnologia e as aplicações da importância da Biotecnologia na vida das pessoas, dos animais e do meio ambiente. Foque seus esforços para abrir o leque de aplicações com relação a importância de organismos geneticamente modificados e onde eles podem ser efetivos para a melhoria do meio ambiente e, conseqüentemente, na saúde das pessoas.

Pratique mais!	
<b>Instrução</b> Desafiamos você a praticar o que aprendeu, transferindo seus conhecimentos para novas situações que pode encontrar no ambiente de trabalho. Realize as atividades e depois compare-as com a de seus colegas.	
"Controle da Dengue"	
<b>1. Competência Geral</b>	A competência geral desta disciplina é conhecer e ser capaz de aplicar a diferentes contextos as principais técnicas de Biologia Molecular e da Biotecnologia.
<b>2. Objetivos de aprendizagem</b>	Os objetivos são entender o conceito da Biotecnologia e suas aplicações nos diversos setores da saúde, agricultura, genética, bioinformática, meio ambiente, dentre outras aplicações.
<b>3. Conteúdos relacionados</b>	Fundamentos de biotecnologia e suas aplicações.
<b>4. Descrição da SP</b>	A cidade de Piracicaba enfrentou uma epidemia da dengue no ano de 2015 assim como em anos anteriores. Então, com o auxílio da Biotecnologia, pesquisadores desenvolveram mosquitos geneticamente modificados para tentar controlar essa epidemia, usando armadilhas de captura e um aplicativo de celular para identificar e monitorar o número de mosquitos capturados, analisando se eram machos e fêmeas e se eram da espécie causadora da dengue. Como acontece esse controle?

(continua)

5. Resolução da SP	<p>Depois de soltar mosquitos <i>Aedes aegypti</i> geneticamente modificados, que devem ajudar a conter a propagação da dengue, a cidade de Piracicaba (a 164 quilômetros de São Paulo) implantou recentemente um projeto-piloto que usa armadilhas de captura e um aplicativo de celular para identificar e monitorar os mosquitos. A “armadilha” é composta por um recipiente com água e uma lâmina com uma substância atraente na qual o mosquito (principalmente a fêmea) entra para botar ovos, mas fica preso e morre. Assim, o aplicativo permite que o agente de saúde identifique imediatamente se o inseto preso na armadilha é macho ou fêmea e transmita em tempo real os dados para o centro de controle. Desta forma, consegue-se usar a biotecnologia a favor do controle de uma epidemia e, conseqüentemente, na saúde das pessoas daquela cidade. Posteriormente, após esse projeto, pode-se expandir o uso do aplicativo nas demais regiões do país afetadas pela dengue e outras doenças causadas pelo <i>Aedes aegypti</i>.</p>
--------------------	---



### Faça você mesmo

Busque mais informações sobre a Biotecnologia que vem sendo trabalhada em função das doenças causadas pelo mosquito *Aedes aegypti* e faça uma relação do investimento no controle dessa epidemia. Leia artigos a respeito para que você possa ter uma maior quantidade de dados com relação a esse assunto:

GUIMARÃES, Maria; NOGUEIRA, Pablo. Um vilão de muitas caras. **Revista Fapesp**, jun., 2015. Disponível em: <[http://revistapesquisa.fapesp.br/wp-content/uploads/2015/06/016-23\\_CAPA-Dengue\\_232.pdf?dc5f6f](http://revistapesquisa.fapesp.br/wp-content/uploads/2015/06/016-23_CAPA-Dengue_232.pdf?dc5f6f)>. Acesso em: 3 abr. 2016.

### Faça valer a pena!

**1.** O termo “Biotecnologia” pode ser definido como sendo a aplicação de princípios \_\_\_\_\_ envolvendo o processamento de materiais por parte dos \_\_\_\_\_, tendo em vista a aplicabilidade de \_\_\_\_\_ e inovações biotecnológicas voltadas para a melhora do \_\_\_\_\_ da \_\_\_\_\_ das pessoas e da proposta de gerar \_\_\_\_\_ a partir de matérias-primas. Assinale a afirmativa que apresenta a resposta correta para completar a sentença:

a) Básicos e científicos; agentes químicos; tecnologia; bem-estar; saúde; defensivos agrícolas.

- b) Científicos e dinâmicos; agentes físicos; tecnologia; meio ambiente; saúde; estratégias de controle.
- c) Científicos e tecnológicos; agentes químicos; tecnologia; contexto ambiental; economia; produtos.
- d) Científicos e tecnológicos; agentes biológicos; tecnologia; meio ambiente; saúde; produtos.
- e) Básicos e científicos; agentes químicos; tecnologia; ecossistema; saúde; produtos.

**2.** Para entender um pouco mais sobre a Biotecnologia e suas aplicações, pode-se dividir o foco desse assunto em três aspectos principais:

- I. A preparação da matéria-prima para ser utilizada como fonte para os microrganismos.
- II. O processo de fermentação do material em biorreatores, obtendo-se a biotransformação e a produção do material desejado.
- III. A purificação do produto final.

Assinale a alternativa correta:

- a) Apenas as afirmativas I e II estão corretas.
- b) As afirmativas I, II e III estão corretas.
- c) Apenas as afirmativas II e III estão corretas.
- d) Apenas a afirmativa I está correta.
- e) Apenas a afirmativa II está correta.

**3.** A Biotecnologia trabalha no sentido de obter um determinado produto em escalas industriais, ou seja, em grande escala. Assim, a evolução da Biotecnologia depende, em grande parte, de:

- a) Uma otimização do processo de biotransformação, garantindo um aumento de produção significativo.
- b) Um produto de origem natural vindo de microrganismos, plantas e animais.

- c) Condições atmosféricas e ambientais favoráveis.
- d) Uma otimização financeira que garanta que se compre matéria-prima para a grande escala de produção.
- e) Um número de espécies animais e vegetais, assim sendo da biodiversidade local.



## Seção 4.2

### Aplicações biotecnológicas atuais

#### Diálogo aberto

O laboratório de Denise foi mais uma vez premiado pela magnitude dos resultados obtidos na pesquisa com o *Aedes aegypti*, agente causador da dengue, da *Chikungunya* e do *Zika* vírus. Juntamente com os resultados de patenteamento de fármacos que exercem ação contra o câncer, outro grupo de alunos da equipe de Denise que trabalha no sequenciamento genético do *Zika* vírus foi convidado para apresentar seus resultados em congresso. Na verdade, desde que houve a epidemia de dengue nos anos de 2013 e 2014, a equipe uniu esforços para montar um projeto de maior escala e trabalhar no sequenciamento do material genético do *Zika* vírus.

Vamos, então, acompanhar quais técnicas foram usadas pelo grupo de pesquisa de Denise para realizar o sequenciamento do material genético do agente biológico causador da dengue e *Zika* vírus e os avanços biotecnológicos que esse sequenciamento pode trazer para a cura de doenças que envolvem o *Aedes aegypti*.

#### Não pode faltar

A Biotecnologia abrange um conteúdo multidisciplinar que envolve diferentes áreas de conhecimento, como a bioquímica, genética, microbiologia aplicada e engenharia bioquímica, favorecendo a compreensão sobre os bioprocessos. Ela usa ou trabalha com células ou sistemas bioquímicos em processos de produção de bens ou de prestação de serviços, visando à identificação e otimização de um produto. Além disso, se destaca no que se refere ao conteúdo tecnológico, sempre lembrando que os primeiros processos industriais estiveram fundamentados na ação de microrganismos e a grande maioria daqueles consagrados usa microrganismos originais ou modificados geneticamente.

O trabalho que envolve processos, produtos e serviços usando diferentes microrganismos é importante, por exemplo, na produção de substâncias de

interesse comercial, como: antibióticos, ácidos orgânicos, solventes, enzimas e biocombustíveis por processos fermentativos. Há casos em que o produto pode ser ainda o próprio microrganismo, como no caso da produção de levedura, de panificação e produtos de uso agrícola. Ou ainda, os microrganismos são usados em processos de tratamento de resíduos e efluentes urbanos e industriais, em processos de biorremediação de solos contaminados.

### **Agentes Biológicos e Bioprocessos Artesanais e Industriais**

O agente biológico deve ser selecionado e usado no momento da transferência da realização do bioprocesso quando se tem uma demanda para a escala industrial, em função de qualidades diversas, como:

- Atividade de síntese elevada, ou seja, capacidade de converter rapidamente o substrato em produto com altos rendimentos e elevados valores de produtividade.
- Manutenção da estabilidade sob condições ambientais extremas, mesmo com elevada pressão osmótica do próprio meio. Em elevada temperatura e força iônica, o material ainda é resistente a substâncias tóxicas, que podem aparecer no processo de tratamento da matéria-prima ou já em fase de aplicação do tratamento.

As técnicas da biologia molecular aprendidas até aqui, aliadas à tecnologia, são usadas para melhorar as propriedades de um agente biológico. É importante ressaltar que essas técnicas são usadas quando necessárias, para maximizar o potencial produtor dos agentes biológicos responsáveis pelas transformações e aplicações biotecnológicas.

Você se lembra da penicilina, um antibiótico descoberto anos atrás para tratamento das infecções? Então, ela gerou o impacto de manipulações genéticas, moleculares e químicas que, associadas ao desenvolvimento de meios, favoreceu a melhoria do processo. A combinação de técnicas que otimizaram o processo fermentativo resultou em um aumento no rendimento em penicilina da ordem de três vezes em magnitude (de 0,06 a 26 g/L). Assim, o fato de se conhecer as características ou, ainda, as propriedades físico-químicas desses biocatalisadores visando sua melhoria, forneceu inúmeras vantagens no desenvolvimento de bioprocessos industriais.

Quando usamos células vivas na realização de bioprocessos de interesse, devemos, primeiramente, identificar as características desejadas dos agentes biológicos e buscar as linhagens arquivadas em coleções de cultura por meio do isolamento de amostras naturais, envolvidas nos procedimentos de seleção e melhoramento de linhagens produtoras.



No cultivo de células microbianas, animais e vegetais em laboratório, é necessário, para se conhecer suas características/propriedades, determinar o seu crescimento. Uma variedade de nutrientes é usado para o referido crescimento, incluindo fonte de carbono, nitrogênio, enxofre, fósforo, oxigênio, vitaminas e sais minerais.

### Organismos Geneticamente Modificados

Os agentes biológicos, principalmente microrganismos usados em processos industriais, devem ser preservados e conservados de maneira adequada. Assim, diferentes áreas de interesse estão envolvidas no estudo de organismos geneticamente modificados:

- A biologia molecular aplicada, que trabalha com a origem, transformação e interação dos genes e seus produtos expressos na forma de proteína, favorecendo o controle do trabalho genético, assim como a confecção de agentes biológicos com excelentes combinações conhecidas como 'células-biorreatoras'.
- A bioengenharia, que combina métodos analíticos e matemáticos para que se quantifique fluxos em modelo *in vivo* usando animais, com o auxílio de técnicas da biologia molecular, tendo como objetivo a programação das modificações genéticas, que devem melhorar as propriedades celulares e, conseqüentemente, suas aplicações. Assim, por meio de técnicas específicas, é possível que se mantenha todas as características da população microbiana de interesse, garantindo a qualidade do produto. A manutenção e a preservação de microrganismos são etapas de extrema importância quando se trabalha com os organismos geneticamente modificados. Existe a preocupação para que se assegure a viabilidade e a eficácia de atividade das moléculas obtidas, bem como a prevenção das mudanças genéticas "drásticas" que podem levar à redução ou perda das propriedades fenotípicas desejadas. As técnicas de manutenção e a preservação de microrganismos trabalham com a inclusão de repiques periódicos dos materiais, conservação deste em parafina e em glicerol e, ainda, a liofilização e a criopreservação para garantia da preservação do material.

Após a inoculação, a célula produz a energia que é usada pelo próprio metabolismo para trabalhar as próprias reações de biossintética e de manutenção energética. As moléculas consideradas combustíveis, que são os carboidratos, lipídios e proteínas, são utilizadas pela célula e contêm elevado nível de energia química.

Muitas células vivas precisam do oxigênio para manter seu metabolismo.

Assim, em bioprocessos que trabalham com microrganismos aeróbios, o oxigênio essencial para esses organismos é suprido na forma de bolhas de ar, por meio de um compressor. Já o inverso, em bioprocessos anaeróbicos, os microrganismos obtêm o oxigênio metabólico por meio de substâncias que contêm a molécula de oxigênio ligada molecularmente. Se essas exigências nutricionais não forem atendidas, o processo pode sofrer desvios no metabolismo celular ou até ser interrompido, com perda da viabilidade celular.

Dentro dessa concepção, se o agente biológico do processo for um microrganismo que possui característica que confere agregação (floculação), pode acontecer de se fazer uso de novas configurações de biorreatores mais compactos e menos intensivos em energia, suprimindo equipamentos de separação de células onerosas, viabilizando o processo e tornando-o mais econômico. Ainda podem ocorrer as associações de sistemas reacionais que separam os produtos simultaneamente, sendo também desenvolvidas práticas, como: a separação cromatográfica de enzimas em suportes de colunas cromatográficas, a destilação a vácuo e os sistemas de fermentação que trabalham acoplados a módulos de membrana, com os consequentes benefícios técnicos e econômicos de bioprocessos.

## Nutrição dos Microrganismos

As necessidades nutricionais dos diferenciados microrganismos são muitas, uma vez que eles apresentam diferenças peculiares, como a própria capacidade de sintetizar os constituintes celulares a partir de nutrientes simples. A sobrevivência de todos os microrganismos está relacionada com a obtenção de água, de fontes de energia, de carbono, de nitrogênio e de elementos minerais, bem como a disponibilidade de oxigênio.

As fontes de energia para suprir as necessidades nutricionais de microrganismos estão relacionadas com:

- **Fontes de Carbono:** o carbono é um elemento essencial e necessário para a biossíntese de compostos celulares vitais, como, por exemplo: carboidratos, proteínas, lipídeos, ácidos nucleicos. A forma de utilização dos compostos está relacionada àquela que cada microrganismo em particular usa para seu próprio suprimento de energia. Os compostos de carbono, como C1 (CO, CO<sub>2</sub>, formaldeído, metanol, metilamina), as macromoléculas complexas (glicogênio, amido, proteínas, celulose, ácidos nucleicos) e os variados compostos orgânicos da natureza podem ser utilizados como energia por microrganismos, desde que esses organismos possuam os sistemas enzimáticos e de transporte adequados. Compostos orgânicos, como aminoácidos e proteínas, servem tanto como fonte de carbono,

como de nitrogênio. Os carboidratos são as principais fontes de carbono e energia para a grande maioria dos microrganismos, sendo, então, a glicose o combustível utilizado, seguida pela frutose, manose e assim por diante. Com a tecnologia do DNA recombinante, aumenta-se a importância de fontes de carbono pouco utilizadas anteriormente como matéria-prima de microrganismos. Como, por exemplo, tem-se a crescente utilização das leveduras para a produção de enzimas recombinantes, favorecendo o seu crescimento inicial em fontes de carbono e a indução do gene de interesse com metanol.

- **Fontes de Nitrogênio:** o nitrogênio é um constituinte essencial às células, pois está envolvido na formação de aminoácidos e ácidos nucleicos. Com relação à assimilação de fontes de nitrogênio, os microrganismos apresentam grande diversidade na forma de utilização dos compostos. A fonte de nitrogênio é muitas vezes de natureza autótrofa, sendo os microrganismos capazes de utilizar nitrato, amônio e, algumas vezes, nitrogênio gasoso como única fonte de nitrogênio. Outros podem obter suprimento deste elemento na forma de aminoácidos ou de bases purínicas e pirimidínicas.
- **Fontes de Minerais:** são essenciais para suas funções fisiológicas e estruturais, como os compostos: hidrogênio, oxigênio, fósforo, potássio, cálcio, magnésio, sódio, ferro, enxofre e cloro. Além disso, há a necessidade da presença de elementos-traços, que desempenham papel fundamental como constituintes de enzimas e coenzimas. Assim, estão incluídos como elementos-traços: manganês, cobre, zinco, cromo, níquel, cobalto e boro, e são, em geral, necessários em baixas quantidades. Vale lembrar que a água é essencial para a atuação das diferentes enzimas, na dissolução de materiais orgânicos e inorgânicos e, principalmente, como “reagente” na grande maioria dos processos metabólicos. Os nutrientes inorgânicos trabalham com o metabolismo, favorecendo a síntese de compostos fundamentais para o funcionamento celular. Ainda são considerados cofatores para reações enzimáticas, estimulando o metabolismo. Podem, também, inibir o metabolismo e, finalmente, favorecer as propriedades osmóticas da célula.
- **Fatores de Crescimento:** diversos microrganismos são incapazes de sintetizar substâncias orgânicas simples e complexas, vitaminas ou, até mesmo, aminoácidos, que são verdadeiros precursores e/ou constituintes de enzimas e coenzimas. Sempre que necessário, essas substâncias devem ser supridas ao meio de cultura para que os microrganismos tenham condições de crescer naquelas condições.

## Cultivo *in vitro* de Células Animais

O cultivo de células teve início em 1907 sendo desenvolvido um método que permitisse estudar o comportamento de células animais fora do organismo, em um meio ambiente totalmente controlado. Até hoje essa técnica é uma importante ferramenta de pesquisa nos laboratórios.

A proliferação *in vitro* é diferente daquela *in vivo*. Por mais próximo que o modelo esteja da realidade, o modelo *in vitro* ainda pode causar problemas para o desenvolvimento celular, pois é difícil a mimetização do ambiente orgânico.

Ainda existem muitas vantagens no modelo experimental de cultura de células. O controle das condições experimentais, como as condições do ambiente, a homogeneidade da amostra – quando comparada ao uso de animais em experimentos – e a economia, são algumas das grandes vantagens dessa técnica.

À medida que uma cultura de célula é replicada, as células com maior capacidade de se proliferar irão predominar na área de cultivo. Isso acontece devido às células não se adaptarem bem ao cultivo celular. Ainda pode ocorrer algum trauma no processo de desagregação celular, fazendo com que não se atinja uma taxa normal de proliferação celular. No entanto, essas células ainda não perderam suas características de tecido de origem, por apresentar alta proliferação celular. A esse tipo de proliferação celular dá-se o nome de “linhagem celular contínua”, sendo muito usada em pesquisa, pois pode ser mantida em cultura por um grande período de tempo (quando comparada às células primárias, guardando características do tecido original). Diferentes linhagens celulares contínuas podem se propagar e crescer sem, no entanto, perder suas características de um tecido original.



### Exemplificando

Esse tipo de célula é usada em pesquisa e na fabricação de vacinas, como no caso da linhagem MRC-5, vindo do tecido do pulmão de feto humano para fabricação da vacina contra a rubéola, por exemplo.

Quando você percebe, no entanto, que as células perdem as semelhanças morfológicas e genéticas com relação ao tecido, significa que as características genéticas delas sofreram algum tipo de alteração. Esse tipo de situação dá origem às células conhecidas como “células transformadas”.

As células transformadas em cultura, muitas vezes, sofreram a ação de substâncias químicas, de vírus ou de agentes físicos, como a luz ultravioleta. Todos esses agentes podem induzir mutações na linhagem celular, modificando a composição genética e interferindo no controle do ciclo celular, originando os chamados proto-oncogenes e genes supressores de tumor. A mutação pode por

sua vez resultar de uma superexpressão de proto-oncogenes ou da inativação de genes supressores de tumor, levando a uma proliferação exacerbada das células.



### Assimile

As células transformadas também podem ser obtidas de tecidos em mutação, como é o caso de tecidos tumorais, por exemplo, e das células HeLa obtidas de um tumor de útero humano. As células de HeLa são morfológicamente e geneticamente diferentes do tecido original e se proliferam infinitamente quando em condições de cultura de células.

Essas células são usadas em estudos de citotoxicidade, controle de qualidade, dentre outros ensaios. As células transformadas não são muito usadas na produção de vacinas, devido à probabilidade do risco de o DNA alterado dessa célula vir a alterar o DNA do indivíduo que faz uso dessa vacina. Uma das células mais usadas na fabricação de vacinas é chamada de VERO, no entanto, o controle com relação à concentração de DNA presente no lote de vacina é rígido, sem poder exceder 10 ng de DNA estabelecido pela Organização Mundial de Saúde (OMS).



### Refleta

Você já pensou o que são e qual seria a função dos marcadores moleculares? Marcadores moleculares são sequências de DNA que revelam polimorfismos entre organismos geneticamente relacionados, sendo ainda amplamente utilizados em estudo populacional, mapeamento e análises de similaridade e, ainda, distância genética.

Assim, os marcadores moleculares surgiram devido à necessidade de se detectar um polimorfismo genético presente no DNA. Um marcador molecular é definido como uma característica ou fenótipo molecular oriundo de um segmento específico de DNA. Os referidos marcadores moleculares são características de DNA que mostram a diferença entre dois ou mais indivíduos, sendo uma característica herdada geneticamente. Existem importantes razões para que os marcadores moleculares sejam vantajosos em relação aos marcadores morfológicos convencionais.

No entanto, o uso dos marcadores moleculares permite que a seleção e os novos cruzamentos sejam realizados em uma mesma geração populacional, aumentando a viabilidade e a eficiência de um programa de melhoramento genético. Podem ser associados ou não a um gene, ou a uma região cromossômica ou a um fenótipo, desde que as gerações subsequentes possam obter essas características,

comprovando e garantindo sua natureza genética. Marcadores moleculares de DNA são usados para sinalizar genes de resistência a doenças; vetores, como insetos e pragas; melhoramento genético dos pais; desenvolvimento de mapas genéticos; seleção de resistência a patógenos ainda inexistentes em determinada região; estudos de interação genótipo com relação ao ambiente em que vivem; processos legais; dentre outros.



### Vocabulário

**Polimorfismo genético:** é uma variedade fenotípica que pode ser separada em classes definidas e distintas. Envolve um controle genético sem sofrer grandes influências de fatores ambientais. Exemplos: sistema sanguíneo ABO (4 fenótipos: A, B, AB, O), diferença entre destro e canhoto, presença ou não do dente 3º molar, entre várias outras opções.

**Entomologia:** ciência que estuda os insetos sob os mais variados aspectos e relações, seja com o homem, as plantas, os animais e o meio ambiente.

### Micropropagação de Vegetais

A propagação vegetativa trabalha com a multiplicação assexuada de partes de plantas, como as células, os tecidos e os órgãos, originando indivíduos que podem ser idênticos à referida planta-mãe. É uma técnica que obtém os dados genéticos por meio de programas de melhoramento genético.

As principais vantagens da propagação vegetativa de espécies florestais e vegetativas incluem a formação de plantios clonais de alta produtividade e certa uniformidade, visando, assim, a melhoria da qualidade da madeira e de seus produtos, além da multiplicação de organismos que são resistentes às pragas e doenças e aos componentes genéticos aditivos e não aditivos, resultando em ganhos dentro de uma mesma geração de seleção.

A micropropagação é considerada uma técnica de reprodução de plantas a partir de órgãos diferenciados, que são: gemas, embriões e partes de órgãos ou células em cultura estéril e "in vitro". É uma técnica com diferentes possibilidades para propagação comercial de plantas, possibilitando a multiplicação de um grande número de indivíduos a partir de poucas mudas ou matrizes em um pequeno espaço de tempo e pequena área de laboratório. A micropropagação ainda pode auxiliar nos programas de melhoramento genético, antecipando a resolução de um possível problema em determinada espécie.

A micropropagação usada na produção comercial de mudas e de espécies

florestais deu um resultado bastante satisfatório para espécies e híbridos de *Eucalyptus* de alto valor comercial e de difícil enraizamento, favorecendo o reflorestamento e a manutenção do ambiente vegetativo.



### Pesquise mais

Para aprofundar o assunto a respeito da micropropagação vegetal, leia o texto a seguir:

WENDLING, Ivar. Propagação Vegetativa. I **Semana do Estudante Universitário**, Corumbá, 2003. Disponível em: <<http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/50925/1/Wendling.pdf>>. Acesso em: 3 abr. 2016.

Leia o texto que se refere ao cultivo de células:

ALVES, Emanuele Amorim; GUIMARÃES, Anna Christina R. Cultivo celular. In: MOLINARO, Etelcia; CAPUTO, Luzia; AMENDOEIRA, Regina. **Conceitos e métodos para a formação de profissionais em laboratório de saúde**. v. 2. EPSJV: Rio de Janeiro, 2010. Disponível em: <[http://www.epsjv.fiocruz.br/upload/d/capitulo\\_5\\_vol2.pdf](http://www.epsjv.fiocruz.br/upload/d/capitulo_5_vol2.pdf)>. Acesso em: 3 abr. 2016.

### Sem medo de errar

A equipe de pesquisa da professora Denise trabalha no sequenciamento genético do *Zika* vírus. Na verdade, desde que houve a epidemia de dengue dos anos de 2013 e 2014, a equipe uniu esforços para montar um projeto de maior escala e trabalhar no sequenciamento do material genético do *Zika* vírus. Vamos acompanhar quais as técnicas foram usadas pelo grupo de pesquisa de Denise para realizar o sequenciamento do material genético do agente biológico causador da dengue e do *Zika* vírus.

A referida professora e sua equipe sequenciaram o material genético do *Zika* extraído de uma pessoa que desenvolveu a doença em Campinas. O sequenciamento do material genético do vírus revelou um genoma enxuto. Determinou-se a ordem correta das bases nitrogenadas: adenina (A), guanina (G), citosina (C) e timina (T) da molécula de DNA do *Zika* vírus. São cerca de 10,6 mil unidades (nucleotídeos) compondo uma fita simples de ácido ribonucleico (RNA). Essa fita abriga ao todo apenas seis genes, que são capazes de produzir 10 diferentes proteínas. Sabe-se ainda que alguns genes são polivalentes.



### Atenção!

Leia a respeito dos marcadores moleculares e sua influência biotecnológica:

EMBRAPA. **Marcadores moleculares – DNA**. n. 3., dez. 2000. Disponível em: <[http://www.cnpt.embrapa.br/biblio/p\\_do03\\_4.htm](http://www.cnpt.embrapa.br/biblio/p_do03_4.htm)> e a reportagem a respeito do genoma do Zika vírus em: <http://revistapesquisa.fapesp.br/2016/02/19/zika-em-expansao/> e ainda em: <[http://agencia.fapesp.br/epidemia\\_de\\_zika\\_agiliza\\_mecanismos\\_de\\_financiamento\\_de\\_pesquisa\\_no\\_pais/22679/](http://agencia.fapesp.br/epidemia_de_zika_agiliza_mecanismos_de_financiamento_de_pesquisa_no_pais/22679/)>. Acesso: 3 abr. 2016.



### Lembre-se

Um dos grupos mais usados como marcador molecular, e que foi desenvolvido no início deste tipo de estudo, foi o Polimorfismo no Comprimento dos Fragmentos de Restrição (RFLPs). Quando clivados com enzimas de restrição, expressam, por eletroforese, as diferenças de comprimento de fragmentos de DNA, observadas por meio da hibridização desses fragmentos com sequências homólogas do DNA marcado com radioatividade ou por luminescência.

## Avançando na prática

### Pratique mais!

#### Instrução

Desafiamos você a praticar o que aprendeu, transferindo seus conhecimentos para novas situações que pode encontrar no ambiente de trabalho. Realize as atividades e depois compare-as com a de seus colegas.

#### "A Microcefalia e o Zika vírus"

1. Competência Geral	A competência geral desta disciplina é conhecer e ser capaz de aplicar a diferentes contextos as principais técnicas de Biologia Molecular e da Biotecnologia.
2. Objetivos de aprendizagem	Conhecer os procedimentos para clonagem e sequenciamento de DNA; conhecer as técnicas de análise de DNA, RNA e proteínas; e conhecer os fundamentos e aplicações da Biotecnologia.
3. Conteúdos relacionados	Agentes biológicos usados em aplicações biotecnológicas; bioprocessos artesanais e industriais; cultivo <i>in vitro</i> de células animais; marcadores moleculares; micropropagação de vegetais; organismos geneticamente modificados.

(continua)



4. Descrição da SP	Sabe-se que existe uma suspeita do <i>Zika</i> vírus estar relacionado com dados de microcefalia em diversas regiões do Brasil, principalmente na região nordeste. Dessa forma, a equipe coletou o líquido amniótico de gestantes para realizar o teste e verificar se há a relação entre a microcefalia e o aparecimento do <i>Zika</i> vírus. Qual a análise deve ser feita neste caso?
5. Resolução da SP	O mapeamento genético do vírus foi feito em um laboratório da professora Denise. Os pesquisadores coletaram amostras de líquido amniótico, que é o líquido que envolve o bebê durante a gestação, dentro da barriga da mãe. O material foi retirado de duas mulheres grávidas de bebês diagnosticados com microcefalia. O líquido amniótico passa por um teste para identificar a presença de microrganismos e, nesse caso, um vírus que foi encontrado em grande quantidade foi o do <i>Zika</i> vírus. A coleta do líquido amniótico é feita com mais de dois meses depois que as gestantes já estiverem com os sintomas do vírus. E os vírus continuavam ativos. Neste caso, a equipe coordenada pela professora Denise primeiro realizou exames do tipo PCR, que identificam o DNA viral no sangue e, depois, por meio de um maquinário de sequenciamento genético, conseguiram montar toda a sequência genética, a verdadeira identidade do vírus. Assim, o DNA completo do vírus foi decifrado e realmente é encontrado no líquido amniótico de gestantes com microcefalia no Brasil. O que foi descoberto é que o vírus que infectou as gestantes na Paraíba é idêntico ao que apareceu na Polinésia Francesa, em 2013.



### Lembre-se

Ainda existe uma questão a entender em relação ao vírus com a microcefalia. São os dois temas fundamentais do ponto de vista da urgência. Pensa-se assim no desenvolvimento de uma vacina, por meio de estudos de entomologia, para entender a genética do mosquito e sua capacidade de infectar as pessoas.



### Faça você mesmo

Agora que você já conhece bem a importância do sequenciamento genético de um determinado microrganismo e sua aplicação no controle de doenças, relate aqui qual seriam outras doenças que poderiam ser trabalhadas desta forma. Consulte o material que você trabalhou até agora e liste 3 situações que podem ocorrer em humanos, animais e na agricultura/plantas, colocando o que já vem sendo estudado com o auxílio da Biologia Molecular e da Biotecnologia.

**Faça valer a pena!**

**1.** A Biotecnologia abrange um conteúdo multidisciplinar que usa ou trabalha com células ou sistemas bioquímicos em processos de produção de bens ou de prestação de serviços, tendo como objetivo:

- a) O aumento de cromossomos de uma célula visando à reprodução celular.
- b) Prestação de serviço visando à identificação e otimização de um produto.
- c) Obtenção de mais resultados dentro de um laboratório.
- d) Realização de experimentos e replicação dos dados.
- e) O aumento de material genético que deve ser consumido com o metabolismo.

**2.** A Biotecnologia se destaca no que se refere ao conteúdo tecnológico, sempre lembrando que os primeiros processos industriais estiveram fundamentados na ação de microrganismos. Assim, é correto afirmar que:

I. A grande maioria usa microrganismos originais ou modificados geneticamente.

II. O trabalho que envolve processos, produtos e serviços usa sempre os mesmos microrganismos.

III. Os resultados visam a produção de substâncias de interesse comercial, como: antibióticos, ácidos orgânicos, solventes, enzimas e biocombustíveis por processos fermentativos.

- a) A afirmativa I está correta.
- b) A afirmativa II está correta.
- c) A afirmativa III está correta.
- d) As afirmativas I, II e III estão corretas.
- e) As afirmativas I e III estão corretas.

**3.** Sobre os agentes biológicos envolvidos com a Biotecnologia, é correto afirmar que:

I. O agente biológico deve ser selecionado e usado no momento da transferência da realização do bioprocesso.

II. O bioprocesso acontece quando se tem uma demanda para a escala industrial.

III. A qualidade da atividade de síntese elevada deve manter a estabilidade do bioprocesso mesmo encontrando condições adversas, como elevada pressão osmótica do próprio meio, elevada temperatura, entre outras coisas.

Assinale a alternativa correta:

- a) Somente a afirmativa I está correta.
- b) Somente a afirmativa II está correta.
- c) Somente as afirmativas I e II estão corretas.
- d) As afirmativas I, II e III estão corretas.
- e) Somente a afirmativa III está correta.



## Seção 4.3

### Avanços científicos proporcionados pela Biotecnologia

#### Diálogo aberto

Outro assunto que o grupo de pesquisa que a professora Denise está estudando é a associação do uso de células-tronco na regeneração de células-beta de pâncreas de diabéticos. Um grupo de pacientes diabéticos está recebendo células-tronco, pois apresenta um quadro de diabetes estabilizado, recém-descoberto, no entanto, já dependentes de insulina, com drástica restrição alimentar. Qual o efeito das células-tronco no organismo dos pacientes? Que tipo de células-tronco são inoculadas no pâncreas desses pacientes?

Vamos acompanhar quais os procedimentos serão usados pelo grupo de pesquisa de Denise para realizar o implante de células-tronco nesses pacientes e quais os possíveis efeitos dessa técnica da Biotecnologia.

#### Não pode faltar

As células-tronco são células capazes de se autorrenovar, dividir e de se diferenciar em variados tipos de células. Além disso, podem ser programadas para atuar em funções específicas, quando ainda não são especializadas para determinada função. Assim, as células-tronco podem sofrer autorreplicação, ou seja, se duplicar, gerando uma ou mais células-tronco.

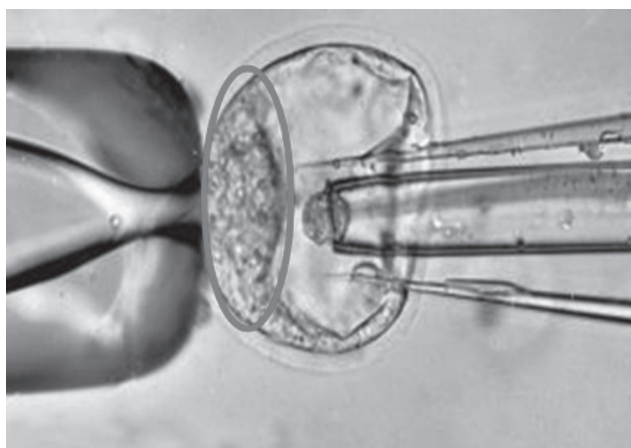
Os principais tipos de células-tronco são: as células embrionárias e as adultas, que podem ser encontradas na medula óssea e no cordão umbilical (origem natural), ou ainda aquelas chamadas de pluripotentes induzidas, que foram obtidas por cientistas em laboratório, em 2007.

#### Células-tronco Embrionárias

As células conhecidas como embrionárias, ou pluripotentes, possuem a

capacidade de se transformar em qualquer tipo de célula adulta e por isso recebem esse nome. Após a fecundação entre o 4º e 5º dia, essas células se encontram no estágio de blastocisto e são então denominadas como células-tronco embrionárias. Veja a figura que segue e localize esse importante tipo de célula capaz de regenerar tecidos e dar origem a variados tipos de células.

Figura 4.1 | Extração de células da massa celular interna do blastocisto



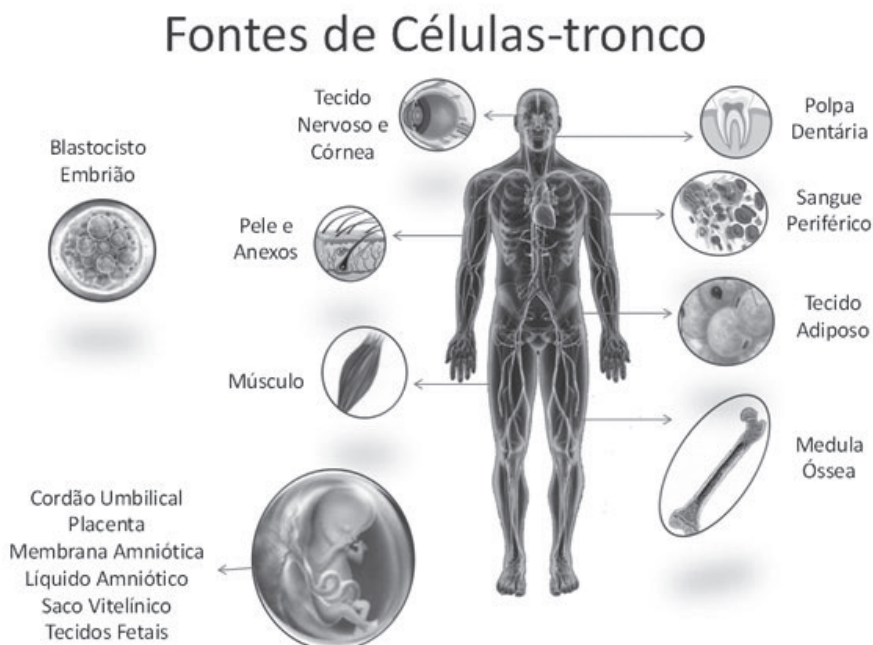
Fonte: Instituto de Pesquisa com Células-tronco. Disponível em: <<http://celulastroncors.org.br/celulas-tronco-2/>>. Acesso em: 3 abr. 2016.

O corpo humano contém um número próximo de 216 tipos diferentes de células e as células-tronco embrionárias, por serem pluripotentes, podem se transformar em qualquer uma delas.

Sabe-se que na fase adulta a maior parte das células-tronco é encontrada na medula óssea e, também, no sangue do cordão umbilical. No entanto, cada órgão do nosso corpo contém determinada quantidade de células-tronco para então poder renovar as células durante toda a vida. Elas podem sempre se dividir para gerar uma célula nova ou, então, outra célula diferenciada. As células-tronco adultas são chamadas de multipotentes por serem tão versáteis, quando comparadas às células embrionárias.

Dados revelam que as primeiras células-tronco humanas induzidas apareceram a partir da pele, no ano de 2007. A partir das células-tronco, o processo de reprogramação celular acontece pela inserção de um vírus que contenha 4 genes. Estes genes são colocados no DNA de determinada célula adulta, como a célula da pele, e reprogramam o código genético. Por meio desse novo programa, as células retornam à fase de célula-tronco embrionária, abrangendo as características de autorrenovação e capacidade de se diferenciarem em qualquer tecido. As células-tronco induzidas são células pluripotentes (IPS) e podem se autorrenovar e se diferenciar em diferentes células e tecidos.

Figura 4.2 | Fonte de Células-tronco



Fonte: <<http://www.ccb.med.br/arquivos/images/001.jpg>>. Acesso em: 3 abr. 2016.

### Como as células-tronco podem ser usadas?

Hoje, a pesquisa com as células-tronco é de grande importância para que se entenda como essas células podem se renovar e manter o funcionamento e o crescimento dos organismos. Ainda vale refletir o que pode acontecer com o nosso organismo durante o desenvolvimento de uma doença. As células-tronco fornecem aos cientistas diversos tipos de ferramentas que trabalham a favor da cura de doenças, testando medicamentos e desenvolvendo terapias que fornecem resultados efetivos.

A terapia celular consiste exatamente na troca ou substituição de células doentes por células novas e saudáveis. De certa forma, na teoria, qualquer doença que tenha degeneração de tecidos em nosso organismo poderia ser tratada por meio da terapia celular. Quando se trata de pesquisa com células-tronco, toda e qualquer tipo de célula é importante para análise, pois cada uma delas têm um potencial específico para ser estudado e usado em diferentes tipos de terapia celular.

Ainda após a criação das células-tronco induzidas (IPS), continuamos a desenvolver a reprogramação celular, favorecendo o crescimento de células e tecidos, renovando a estrutura e o funcionamento dos órgãos. Os resultados desses estudos são bastante promissores, no entanto, as pesquisas com células

embrionárias, assim como com as IPS, ainda apresentam certa margem de insegurança com relação ao seu uso. Quando as células-tronco são isoladas, é necessário fornecer as condições ideais para que elas possam se transformar em células específicas para determinado tratamento escolhido. Ainda é necessário que as células de determinada especificidade do corpo sejam implantadas e estimuladas para funcionar e interagir com as células naturais do corpo humano, trabalhando como se fossem elas.

As células-tronco podem ser usadas no sentido de substituir as células que o organismo, por algum motivo, deixou de produzir, por alguma alteração ou deficiência em tecidos lesionados ou doentes. As pesquisas com células-tronco sustentam e trabalham na esperança de se encontrar tratamento ou até a cura para doenças como: diabetes, infarto, esclerose múltipla, distrofia muscular e doenças degenerativas, como Alzheimer e Parkinson. Assim, as células-tronco da medula óssea do doador darão origem a novas células sanguíneas saudáveis.



### Pesquise mais

Para que você entenda um pouco mais sobre as células-tronco, leia os artigos a seguir:

BYDLOWSKI, S. P. et al. Características biológicas das células-tronco mesenquimais. **Rev. Bras. Hematol. Hemoter.**, v. 31, supl. 1, São Paulo, maio, 2009. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1516-84842009000700006&lng=pt&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-84842009000700006&lng=pt&nrm=iso)>. Acesso em: 3 abr. 2016.

ROSSI, Maria Isabel D; BOROJEVIC, Radovan. Terapias celulares do miocárdio com células da medula óssea: critérios de qualidade e perspectivas. **Rev. Bras. Hematol. Hemoter.**, v. 31, supl. 1, São Paulo, maio, 2009. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1516-84842009000700013&lng=pt&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-84842009000700013&lng=pt&nrm=iso)>. Acesso em: 3 abr. 2016.

### Organismos Transgênicos

Os organismos transgênicos são organismos geneticamente modificados que aparecem de modo artificial, ou seja, não acontecem normalmente na natureza. Por meio do empenho da engenharia genética criam-se, por exemplo: sementes resistentes a seus próprios agrotóxicos ou, ainda, sementes que produzem plantas inseticidas. De qualquer forma, as empresas ganham com isso, mas diversos riscos estão envolvidos com a saúde e com relação ao ambiente em que vivemos.





### Assimile

Algumas soluções são propostas com relação aos transgênicos:

- Pensar na proibição de aprovações de novas culturas transgênicas, principalmente aquelas vinculadas à alimentação da população.
- Fazer uso de rótulos em produtos transgênicos para atender a um direito do consumidor de saber o que está comprando, o que está comendo e se tem alergia a determinado componente, evitando, assim, danos mais sérios à própria saúde.
- Trabalhar na fiscalização e no cuidado de todo o processo de desenvolvimento dos produtos, para que não haja contaminação.

O modelo agrícola que utiliza sementes transgênicas é um caminho insustentável, pois, como o uso de agroquímicos aumenta muito devido ao plantio de transgênicos, haverá sempre um risco futuro de afetar nossos solos e nossa biodiversidade agrícola. Diante dos riscos e da crise climática em que vivemos há anos, podemos afirmar que a preservação da biodiversidade funcionaria como uma garantia de que, se a preservarmos, ainda teremos opções viáveis de produção de alimentos no futuro, estando atentos aos efeitos das mudanças climáticas sobre a agricultura.

O Brasil se tornou o maior consumidor mundial de agrotóxicos no ano de 2008 e teve a primeira lavoura transgênica por meio do plantio da soja. Assim, os transgênicos acabaram trazendo um duplo risco para todos nós e para o nosso ambiente, em um primeiro momento, por serem resistentes a agrotóxicos, ou propriedades similares de inseticidas. O uso contínuo de sementes transgênicas traz resistência no controle de insetos e plantas daninhas, fazendo com que o agricultor aumente a dose de agrotóxicos, prejudicando a saúde e o meio ambiente. Além disso, uso de transgênicos atua no desequilíbrio da biodiversidade, tanto por aumentar o uso de agrotóxicos, como pela contaminação de sementes naturais por aquelas transgênicas.



### Exemplificando

Neste caso, um exemplo de alimento em ameaça é o arroz. A diversidade do arroz brasileiro vai, desde o arroz branco, plantado no Rio Grande do Sul, que se adapta a temperaturas amenas, até outro tipo, plantado no interior do nordeste, vermelho, que está acostumado com o clima seco e quente.

Existem hoje diferentes alimentos transgênicos, produzidos com o intuito de matar insetos e determinar a resistência aos agrotóxicos, mas você já pensou como são os procedimentos para que os transgênicos sejam liberados?

Não há ainda um consenso na comunidade científica com relação à segurança dos transgênicos para com a saúde humana e o meio ambiente. O Greenpeace considera que a liberação de transgênicos é considerada uma afronta a toda precaução com o futuro da agricultura, do meio ambiente e do planeta. Houve e ainda há certa resistência das empresas em deixar de identificar a presença de transgênicos em seus produtos.

O cenário melhorou quando o Greenpeace, em 2005, denunciou que as empresas Bunge e Cargill usavam transgênicos sem rotular. O Ministério Público Federal investigou e a justiça entrou em ação, determinando que as empresas rotulassem seus produtos; isso começou em 2008.



### Refleta

A rotulagem de produtos transgênicos é um direito básico dos consumidores. Todos têm o pleno direito de saber o que consomem, para que isso não venha causar um mal maior à saúde.

Para a maioria dos agricultores que trabalham em plantações convencionais ou orgânicas, as sementes transgênicas no mercado têm lhes trazido certo prejuízo. Eles, na verdade, perderam o direito de vender suas safras como antigamente. Já aqueles que defendem os transgênicos relatam que eles podem ser uma solução ao problema da fome no mundo, pois podem favorecer o aumento da produção de alimentos. No entanto, na realidade não é bem assim.

A produtividade dos transgênicos não acaba sendo superior à produtividade das plantações convencionais e orgânicas e ainda por cima a semente é mais cara por conta dos "royalties" a serem pagos, aumentando o custo de produção. Diante de toda essa realidade e os impactos sobre a biodiversidade agrícola, há um aumento no uso de agrotóxicos, levando a crer que os transgênicos são um problema e não a solução para a fome no mundo.



### Vocabulário

**Greenpeace:** organização não governamental do meio ambiente, com sede em Amsterdã e outros escritórios espalhados em mais de 40 países. Foi fundado em 1971, em Vancouver, no Canadá. Sua ação principal está vinculada à proteção ambiental, ou seja, à preservação da fauna e da flora.

**Transplante Autólogo:** células-tronco do próprio paciente são retiradas dos ossos do quadril, por exemplo, e reimplantados na regeneração de determinado tecido.

## Vacinas de DNA

As vacinas produzidas a partir de bactérias ou vírus causadores de determinada doença têm a função de estimular o sistema imunológico a produzir anticorpos para combater determinado antígeno. Ao contrário das vacinas tradicionais, as vacinas de DNA possuem a propriedade de fornecer determinada resposta imune celular e humoral e seu material se fundamenta no uso de sequências de material genético do agente que se quer destruir. Quando a vacina é administrada, o DNA é reconhecido pelas células de uma pessoa, que por sua vez produz substâncias que seriam normalmente produzidas por vírus, bactérias, entre outros agentes. Isto faz com que o organismo hospedeiro possa reconhecer as substâncias genéticas introduzidas no organismo, produzindo imunidade contra essas substâncias, criando a memória imunológica.

As vacinas de DNA apresentam mais vantagens econômicas e técnicas quando comparadas às vacinas tradicionais, pois seu controle de qualidade é mais simples e não é necessária a refrigeração para seu transporte, já que elas são substâncias estáveis em temperatura ambiente. Além disso, possuem baixo custo de produção e manutenção. Uma vantagem dessas vacinas é que elas estimulam a produção de linfócitos T, células responsáveis em identificar e matar as células infectadas, como no caso das células T killer.

No entanto, há algumas desvantagens das vacinas de DNA, entre elas: dificuldade em reconhecer todas as sequências do DNA do agente que se quer combater, dificultando a correlação dessas moléculas com a necessidade do organismo; possibilidade da indução de uma doença autoimune, já que o organismo pode entender que é para atacar e não defender nosso corpo; integração do DNA no cromossomo do hospedeiro, proporcionando o aparecimento de mutações que podem levar ao câncer; e o aparecimento da tolerância do hospedeiro com relação às substâncias estimuladas pelo DNA. A injeção intramuscular é a forma mais utilizada para as vacinas de DNA, no entanto, pode ser administrada por diferentes vias.



### Pesquise mais

Leia mais sobre as vacinas de DNA:

DINIZ, Mariana de Oliveira; FERREIRA, Luís Carlos de Souza. Biotecnologia aplicada ao desenvolvimento de vacinas. **Revista Estudos Avançados**, 24 (70), São Paulo, 2010. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/ea/v24n70/a03v2470.pdf>>. Acesso em: 3 abr. 2016.



### Faça você mesmo

Diante de todos esses detalhes sobre o uso e a importância dos transgênicos, pesquise quais são os alimentos mais estudados para serem um produto transgênico e quais já são. Relate e evidencie se já existe algum problema relacionado à saúde da população, se há proibição de venda desses produtos, dentre outras características que achar relevante.

### Sem medo de errar

A equipe de pesquisa da professora Denise trabalha no estudo de células-tronco envolvidas na recuperação de um paciente diabético. Um grupo de pacientes diabéticos está recebendo células-tronco, pois apresenta um quadro de diabetes estabilizado recém-diagnosticado, no entanto, dependente de insulina, com drástica restrição alimentar. Qual o efeito das células-tronco no organismo dos pacientes? Que tipo de células-tronco são inoculadas no pâncreas desses pacientes?

O protocolo usado foi o “Transplante Autólogo de Células-tronco Hematopoiéticas em Pacientes com DM1 Recém-Diagnosticado”. É feita inicialmente uma coleta de células-tronco hematopoiéticas que são congeladas. Após 15 dias, torna-se necessária a imunossupressão severa, com o objetivo de destruir completamente o sistema imunológico que se apresenta defeituoso no paciente diabético. O grupo de pesquisa explica que é como se fosse realizado um desligamento do sistema imunológico, por meio da quimioterapia, no hospital e não no consultório, fazendo uso de medicamentos, como a ciclofosfamida e globulina antimonocitária por via endovenosa, durante cinco dias.

Após esse processo, o sistema imunológico é “religado” com o uso das células-tronco hematopoiéticas do próprio paciente. Ocorre o que chamamos de ‘reset imunológico’, ou seja, o sistema imunológico para de atacar as células-beta pancreáticas. Assim, o que restou das células-beta, e que ainda não foram

destruídas, deverá produzir a insulina de forma adequada novamente. É por isso que se deve trabalhar apenas com pessoas no início da diabetes, com idade entre 12 e 35 anos, com 1 mês a 2 meses de diagnóstico.

Os resultados foram muito bons, já que das 23 pessoas que participaram do processo, 20 deixaram de usar insulina, 12 mantiveram a liberdade continuamente do uso da insulina e 8 de vez em quando usavam a insulina como tratamento.



### Atenção!

Neste caso do estudo da professora Denise os pacientes não estão curados, mas, sim, com a diabetes controlada e livres da administração de insulina. Eles devem trabalhar com uma reeducação alimentar e manter a monitoração da glicemia diariamente, sem se esquecer de praticar atividades físicas ao menos 3 vezes por semana.



### Lembre-se

O segundo protocolo que pode ser usado é o que usa a infusão de células-tronco mesenquimais retiradas da medula óssea de um parente próximo, que tenha um parentesco de primeiro grau com relação ao paciente. De acordo com o Dr. Eduardo Couri, em pesquisas com animais, essas células apresentam intensa atividade de bloqueio no que se refere à função de autoimunidade, promovendo a regeneração de células-beta, revertendo a patologia da diabetes tipo 1.

Leia mais a respeito:

MORAES, Pablo de. **Pesquisas com células-tronco no tratamento do diabetes**. Disponível em: <<http://www.endocrino.org.br/pesquisas-com-celulas-tronco-no-tratamento-do-diabetes/>>. Acesso: 3 abr. 2016.

## Avançando na prática

Pratique mais!	
<b>Instrução</b> Desafiamos você a praticar o que aprendeu, transferindo seus conhecimentos para novas situações que pode encontrar no ambiente de trabalho. Realize as atividades e depois compare-as com a de seus colegas.	
"A Importância das Células-tronco"	
1. Competência Geral	A competência geral desta disciplina é conhecer e ser capaz de aplicar a diferentes contextos as principais técnicas de Biologia Molecular e da Biotecnologia.

(continua)

2. Objetivos de aprendizagem	Conhecer os procedimentos para clonagem e sequenciamento de DNA; as técnicas de análise de DNA, RNA e proteínas; os fundamentos e aplicações da Biotecnologia.
3. Conteúdos relacionados	Como são produzidos os transgênicos, suas características e efeitos; transgênicos de importância agrônômica; vacinas de DNA; o avanço proporcionado por pesquisas com células-tronco.
4. Descrição da SP	Sabe-se que o estudo com células-tronco é de grande importância na reestruturação celular e nos tecidos dos diversos órgãos de nosso corpo. A professora e pesquisadora Denise foi convidada para esclarecer dúvidas sobre a ação de células-tronco que estavam sendo colocadas em joelhos de pacientes do HC de uma universidade. Na região da patela (joelho) foi retirado um tumor e no lugar foi implantado um material biocompatível, juntamente com as células-tronco. O que deve acontecer no decorrer do tempo nesse local em que foi adicionada as células-tronco juntamente com o implante biossintético? Como a pesquisadora pode ajudar ou explicar aos pacientes o que está ocorrendo?
5. Resolução da SP:	Denise compareceu ao encontro de pesquisadores do HC de uma universidade para poder ajudar os pacientes a entender como o processo de regeneração do tecido ósseo está acontecendo em seus organismos. Ela explica que, como havia o tumor de natureza maligna, o tecido ósseo foi em sua grande parte retirado da região da "rótula" do joelho, ficando ali um espaço vazio, um buraco. No local, durante a cirurgia, foi colocado o implante sintético que necessita de "ajuda" para sustentar a articulação e favorecer os movimentos para andar, sentar, deitar. Para isso, foi aplicado um tipo de terapia regenerativa ortopédica, que é o Plasma Rico em Plaquetas (PRP), juntamente ao implante que deve aos poucos preencher esse vazio, devolvendo a sustentação ao joelho. Como o joelho suporta todo o peso do corpo e o tecido ósseo tem seu crescimento lento, os resultados demoram a aparecer, sendo necessário paciência e colaboração desses pacientes. Aos poucos são realizadas as tomografias para acompanhar o preenchimento do "buraco" que se formou ao retirar o tumor. Os pacientes agradeceram e os pesquisadores também, pois entendem que a melhora não será imediata, no entanto, estão no caminho certo.



### Lembre-se

A terapia com PRP pode regenerar tendões e auxiliar em tratamentos de lesão da cartilagem com sucesso. Essa regeneração acontece, pois as plaquetas ativam outras células que se reproduzem, recuperando o local afetado.

**Faça você mesmo**

Faça um levantamento de 5 situações nas quais o uso de células-tronco pode ser efetivo na clínica (doenças, tratamentos) ou na pesquisa. Para isso, você pode usar o material disponibilizado ou buscar novas fontes de pesquisa.

**Faça valer a pena!**

**1.** As células-tronco são células que:

- a) Não se renovam, mas estão presentes na medula espinhal e no cordão umbilical.
- b) Renovam-se, mas não se dividem e nem se diferenciam em células distintas.
- c) Autorrenovam-se, diferenciam-se e sofrem autorreplicação.
- d) Autoduplicam-se e dividem-se apenas na fase inicial de seu uso.
- e) Não apresentam capacidade de se reproduzir, mas são encontradas nos diferentes órgãos e sistemas, facilitando sua obtenção.

**2.** Os principais tipos de células-tronco são:

- a) As células embrionárias e as adultas, que são encontradas na medula óssea e no cordão umbilical (origem natural).
- b) As células pluripotentes induzidas, que são as que foram obtidas por cientistas em laboratório.
- c) As células embrionárias adultas produzidas em laboratório.
- d) As células pluripotentes de origem natural.
- e) As células embrionárias e as adultas, que são encontradas na medula óssea e no cordão umbilical, e as pluripotentes induzidas, obtidas por cientistas em laboratório.

**3.** As células retornam à fase de célula-tronco embrionária abrangendo

as características de \_\_\_\_\_ e capacidade de \_\_\_\_\_ em qualquer tecido. Assim, as células-tronco induzidas são \_\_\_\_\_ (IPS) e podem se autorrenovar e se diferenciar em diferentes células e tecidos. A alternativa que completa a sentença é:

- a) Autorrenovação, se diferenciarem, células pluripotentes.
- b) Autoduplicação, se diferenciarem, células multipotentes.
- c) Autorrenovação, se dividirem, multipotentes.
- d) Autoduplicação, se destruírem, células apoptóticas.
- e) Autorrenovação, se destruírem, células apoptóticas.



## Seção 4.4

### Perspectivas da Biotecnologia

#### Diálogo aberto

Vamos falar agora de outro assunto importante que sempre é usado nos laboratórios clínicos e nos laboratórios de pesquisa. É a importância da bioinformática para a compreensão de dados e técnicas moleculares, farmacológicas, fisiológicas, ambientais, dentre muitas outras. É com o uso da bioinformática que os dados envolvidos nos resultados do laboratório da professora Denise, por exemplo, podem ser interpretados. Isso deve facilitar o entendimento de como os dados experimentais e clínicos podem ser aplicados de maneira precisa a respeito de uma determinada doença. Além disso, vamos entender como produtos e processos biotecnológicos podem ter aplicação também no meio ambiente. Esses assuntos devem complementar as variadas áreas de estudo da Biotecnologia.

O laboratório de pesquisa da professora Denise se reuniu para analisar os dados obtidos em determinada pesquisa realizada na última semana. Após a obtenção de resultados de um gel de PCR, verificando a expressão de uma determinada proteína na qual aparecem bandas mais evidentes, o grupo resolveu quantificar a expressão dessas bandas, pois, dessa forma, os dados apresentavam-se significantes de uma maneira quantitativa, caracterizando a importância clínica envolvida no processo de cicatrização de um caso inflamatório crônico. Mas como podemos quantificar esses dados?

Vamos acompanhar quais os procedimentos serão usados pelo grupo de pesquisa de Denise para realizar o estudo dos dados com o auxílio da bioinformática.

## Não pode faltar

Os principais materiais usados na bioinformática são os dados biológicos que obtemos de diversos experimentos, dando origem aos chamados dados quantitativos e qualitativos. Com essa necessidade da avaliação e aplicação de análise de dados disponíveis, existe uma pressão em cima da informática no desenvolvimento de programas, *softwares* e metodologias para que cada vez mais se aumente o investimento nessa área. Ainda é com a aplicação dos conceitos dessa área que conseguimos entender qual a significância de nossos dados.

Desta forma, a bioinformática trabalha com a criação, o desenvolvimento e a operação de determinado banco de dados e outros componentes que ajudam na coleta, na organização e na interpretação dos dados. Diversas áreas da biologia precisam desses métodos que trabalham com sequenciamento de genes, como a biologia celular e estrutural, com o desenvolvimento de fármacos envolvendo estruturas químicas e moleculares diversas.

Para que se saiba cada vez mais sobre a necessidade da análise de dados por meio de equipamentos e inovações tecnológicas diversas, torna-se necessária a atenção no trabalho de programas de computadores, tornando a análise dos dados um verdadeiro avanço dinâmico, acompanhado do avanço tecnológico.

A bioinformática é definida como uma disciplina de caráter biológico e científico, que trabalha os aspectos da biologia, da obtenção, do processamento, do armazenamento, da distribuição, da análise e da interpretação dos dados, isso juntamente com a ajuda da matemática e da computação, para que se entenda a significância dos dados biológicos. Desde 1977 até os anos 1990, houve um significativo aumento na melhora e na eficácia do sequenciamento de DNA, surgindo sequenciadores automáticos. Ainda foi pela análise de proteínas por espectrometria de massas que muitos dados que envolviam a análise de proteínas foram realizados. Além disso, marcadores moleculares e mapas genéticos mostraram problemas na organização e no armazenamento de dados. Nessa fase, computadores foram acoplados a equipamentos de análise de biologia molecular, microscópios eletrônicos, deixando os laboratórios com a capacidade de analisar muito mais dados em muito menos tempo do que antigamente. Hoje, há um intercâmbio entre os programas de bioinformática que usam banco de dados internos e outros fazendo contato com dados externos, mas todos têm a capacidade de organizar e armazenar os múltiplos blocos ou arquivos de dados.



### Assimile

Entenda um pouco mais sobre a bioinformática, compreendendo conceitos da biologia, da informática e da internet:

QUEIROZ, Alexandre. **Apostila de Introdução à Bioinformática**. Caiacó: UFRN, 2002. Disponível em: <[http://genfis40.esalq.usp.br/genfis/index.php?option=com\\_phocadownload&view=category&download=10:introducao-a-bioinformatica&id=7:apostilas-e-artigos&Itemid=68](http://genfis40.esalq.usp.br/genfis/index.php?option=com_phocadownload&view=category&download=10:introducao-a-bioinformatica&id=7:apostilas-e-artigos&Itemid=68)>. Acesso em: 3 abr. 2016.

## Programas para Bioinformática

Os principais programas utilizados nos laboratórios pertencem a uma “família” de programas de nome *Blast*. Você sabia que esses programas foram desenvolvidos para comparar sequências genéticas que envolvem DNA, RNA ou proteína com grande rapidez e sem perder as características de sensibilidade? Isso mesmo, de uma maneira rápida e usando dados eletrônicos e computacionais, os valores dos dados biológicos obtidos permitem interpretarmos de forma estatística e facilitam a escolha real dos dados com significância biológica e a análise das semelhanças que acontecem ao acaso. O programa *Blast* trabalha buscando semelhanças locais e não gerais, sendo possível identificar relações entre as sequências que compartilham regiões de similaridade. Com isso, comparam-se sequências genéticas do homem com rato, camundongo, porco, cachorro, coelho, cobaias, entre outras espécies de interesse agrônomo, como sementes e arroz, por exemplo.



### Exemplificando

Conheça os diferentes programas que contêm bancos de dados que já estão sequenciados e podem ser usados como molde ou como comparação para determinação de novos estudos de sequenciamento genético:

LABORATÓRIO MAX FEFER. **Programas para Bioinformática**. Disponível em: <[http://genfis40.esalq.usp.br/genfis/index.php?option=com\\_content&view=article&id=60&Itemid=69](http://genfis40.esalq.usp.br/genfis/index.php?option=com_content&view=article&id=60&Itemid=69)>. Acesso em: 3 abr. 2016.



### Refleta

Quando nos lembramos da epidemia da dengue que vivemos e agora os casos de microcefalia e as mortes causadas pelo *Zika* vírus, poderíamos nos perguntar caso existisse um banco de genes da variedade do agente causador dessas doenças, com certeza estaríamos bem avançados na prevenção com a produção de vacinas e no tratamento das patologias citadas se isso já existisse.

## Novas aplicações biológicas em saúde

O avanço tecnológico das últimas décadas mostra os inúmeros benefícios para o uso da bioinformática e também apresenta resultados significativos na medicina. Hoje, muitas empresas na área de saúde investem bilhões de dólares em pesquisas na obtenção de equipamentos que favorecem os estudos e diagnósticos envolvidos nas mais diversas patologias.

A medicina tradicional hoje possui médicos que são verdadeiros cientistas que dedicam horas, dias ou até anos para a realização de pesquisas visando o aprimoramento da medicina atual. O aprimoramento de técnicas, aliado à Biotecnologia presente nos métodos usados na medicina, faz crescer uma certeza de que a medicina pode ir além, curando os mais diversos males. A Biotecnologia é vista como uma ciência que se originou na medicina tradicional e que trouxe inúmeros benefícios para variados tipos de problemas que antigamente não apresentavam solução.

Como vimos durante a disciplina de Biologia Molecular e Biotecnologia, alguns exemplos da importância da Biotecnologia são aplicados na medicina, envolvendo, em grande parte, a manipulação de células e proteínas na produção de vacinas, no isolamento de material genético, permitindo um estudo mais detalhado daquela proteína envolvida em determinada doença. Além disso, vale ressaltar a possibilidade de manuseio de embriões humanos para que ocorra a fecundação artificial ou *in vitro*, permitindo às pessoas que não têm filhos, ou que não conseguem ter filhos, a possibilidade de fertilizar e ter uma gestação.



### Refleta

Você já parou para pensar se não houvesse a biotecnologia para realizar a fecundação *in vitro* ou a reprodução assistida? As pessoas não teriam nenhuma chance de poder ter um filho. Leia o artigo e reflita sobre a reprodução assistida:

SILVA, Isabela Machado da; LOPES, Rita de Cássia Sobreira. Reprodução assistida e relação conjugal durante a gravidez e após o nascimento do bebê: uma revisão da literatura. **Estud. Psicol.**, v. 14, n. 3, Natal, set./dez., 2009. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1413-294X2009000300006&lng=pt&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1413-294X2009000300006&lng=pt&nrm=iso)>. Acesso em: 3 abr. 2016.

Outro tipo de tecnologia usada hoje em dia são as células-tronco na reconstituição de órgãos. Na seção anterior nós estudamos a importância das células-tronco para renovação de tecido pancreático em paciente diabético e,

também, a regeneração de tecido ósseo em lesões graves de joelho. Essa tecnologia permite que o paciente tenha nova chance de viver e se adaptar às novas condições de vida.

A questão ética estará sempre envolvida no uso dessas tecnologias, porém uma coisa é certa: é por meio da Biotecnologia na medicina que doenças que antes eram vistas como incuráveis, hoje, se diagnosticadas com certa antecedência, rapidez ou eficiência, podem ter um índice de cura bastante alto.

A Biotecnologia em saúde humana tem demonstrado de modo certo ser uma área de pesquisa bastante promissora para o progresso da ciência e da economia do país. Pela natureza científica, a Biotecnologia tem a capacidade de impactar na melhoria da qualidade de vida da população. Para isso, são necessárias iniciativas para que se obtenha o progresso científico no Brasil.

Os desafios na área de Biotecnologia em saúde humana são muitos, pois há muitas doenças e agentes indutores de doenças que precisam ser investigados. Isso demanda tempo e investimento financeiro. No entanto, é por meio da inovação tecnológica que as melhoras nas condições de vida das pessoas podem ser impulsionadas. Tudo o que falamos reflete nas condições econômicas do país, que hoje apresenta sérias dificuldades. No entanto, não é permitido pararmos, pois a vida depende da solução dessas dúvidas que a pesquisa, aliada à ciência e à tecnologia, pode resolver.



### Pesquise mais

Leia o artigo de grande importância com relação às inovações na área de Biotecnologia na saúde humana:

OLIVEIRA, Henrique S. de; SPENGLER, Rafael Luís. Inovações na área de Biotecnologia em saúde humana em países em desenvolvimento e sua importância econômica e social: uma reflexão sobre o cenário atual e perspectivas futuras. **Caderno Pedagógico, Lajeado.**, v. 11, n. 1, p. 99-116, 2014. Disponível em: <[www.univates.br/revistas/index.php/cadped/article/viewFile/971/564](http://www.univates.br/revistas/index.php/cadped/article/viewFile/971/564)>. Acesso em: 3 abr. 2016.

Leia também o texto que fala de inovação tecnológica e entenda a importância dos recursos microbiológicos para Biotecnologia:

CANHOS, Vanderlei Perez; MANFIO, Gilson Paulo. **Recursos Microbiológicos para Biotecnologia**. Disponível em: <[www.mct.gov.br/upd\\_blob/0000/439.pdf](http://www.mct.gov.br/upd_blob/0000/439.pdf)>. Acesso em: 3 abr. 2016.

## Produtos e processos biotecnológicos com potencial de aplicação em meio ambiente

Você imaginou os avanços que a área da ecologia microbiana e da bioinformática podem trazer para favorecer o desenvolvimento da Biotecnologia?

A diversidade microbiana é considerada uma fonte importante de material genético que trabalha no avanço da Biotecnologia. Estudos em ecologia molecular microbiana mostram que sua diversidade na natureza é muito maior do que se imaginava. Dessa forma, é necessário que estratégias tradicionais de isolamento e seleção de microrganismos sejam realizadas para garantir o desenvolvimento de fármacos e que esses sejam usados nas áreas de saúde, agricultura, indústria e meio ambiente. Outras abordagens de trabalho, as quais envolvem metodologias da bioinformática e da biologia molecular, permitem o acesso às informações a partir de dados genômicos em bases de dados e, conseqüentemente, a análise de microrganismos sem a necessidade de isolamento e cultivo, a partir da metodologia de clonagem direta de DNA de amostras ambientais. Desta forma foram caracterizados novos genes, enzimas e, ainda, fármacos obtidos da natureza e que estão envolvidos no desenvolvimento de novas estratégias de seleção, novos produtos bioativos, assim como alvos e ensaios que estão sendo aplicados a partir do conhecimento da genômica e da expressão gênica de diferentes organismos.

A grande maioria dos estudos e o uso sustentável da biodiversidade tendo como foco os macrorganismos e invertebrados indicam que esses seres formam por volta de 90% das espécies da biosfera, que por sua vez mostram um papel fundamental nos ecossistemas. Além disso, a evolução das metodologias usadas na biologia molecular com aplicação no estudo do meio ambiente contribui de maneira significativa para o avanço do conhecimento sobre a diversidade microbiana. Resultados importantes com base em amplificação e sequenciamento de fragmentos dos genes relatam que a diversidade de microrganismos em amostras ambientais é muito alta. No entanto, apenas uma pequena quantidade em ambientes aquáticos é recuperada em estudos de isolamento e cultivo.

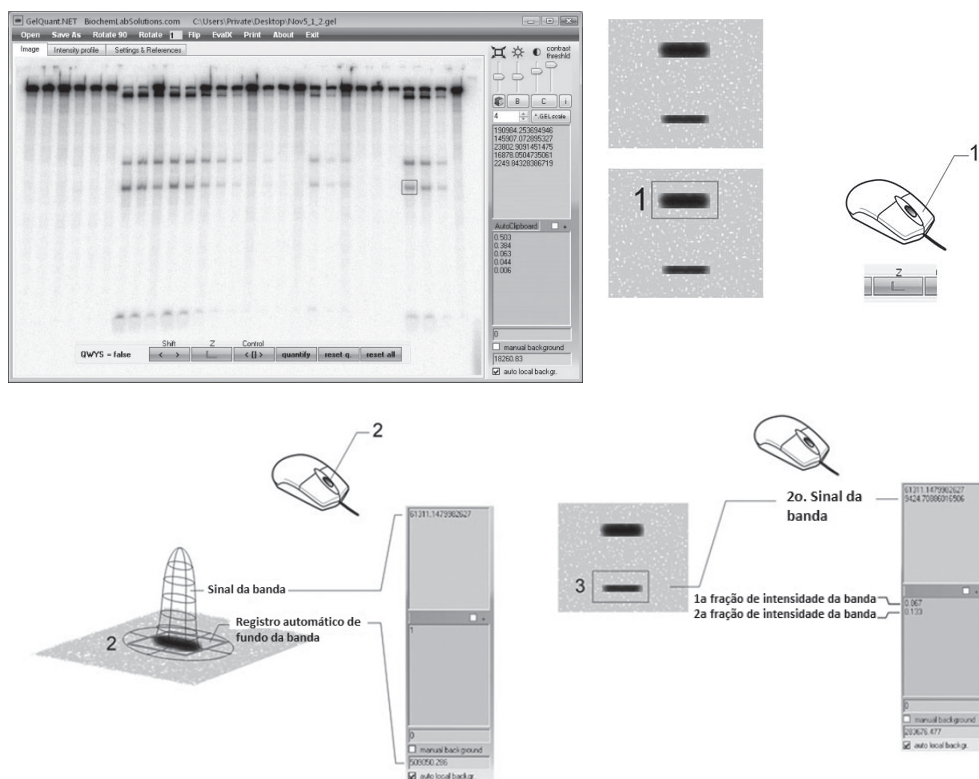
### Sem medo de errar

Retomando a situação-problema desta seção: o laboratório de pesquisa da professora Denise se reuniu para analisar os dados obtidos em determinada pesquisa realizada na última semana. Após a obtenção de resultados de um gel de PCR, verificando a expressão de uma determinada proteína na qual aparecem bandas mais evidentes, o grupo resolveu quantificar a expressão dessas bandas, pois seus dados apresentavam-se significantes de uma maneira quantitativa, caracterizando a importância clínica envolvida no processo de cicatrização de um caso inflamatório crônico. Como podemos quantificar esses dados?

Foi verificado que determinada região do joelho estava em processo de cicatrização. A imagem externa da lesão estava praticamente cicatrizada. A expressão de fator de crescimento epidermal também mostrava bandas muito expressivas, sem gerar dúvida nos resultados. No entanto, a análise quantitativa da referida banda se dá pela análise de um programa de computador no qual os dados devem ser minuciosamente medidos. Mas como seria essa medida?

Por meio do uso da Biotecnologia, com o auxílio de um programa de análise conhecido como "ImageJ versão 1,46r", foi possível caracterizar banda por banda do gel de eletroforese analisado. A análise foi feita da seguinte forma: com o sinal do "mouse" do computador nas referidas bandas (maior e menor) é possível observar os valores de EGF expressos nas bandas. Veja as figuras a seguir que imitam uma situação como se você estivesse analisando os dados obtidos por um programa instalado no computador:

Figura 4.3 (Imagens 1, 2 e 3) | Análise de bandas de gel de eletroforese



Fonte: <<http://biochemlabsolutions.com/GelQuantNET.html>>. Acesso em: 3 abr. 2016.



### Atenção!

Com esse estudo de bioinformática, os dados obtidos em gel de eletroforese constataram a expressão significativa do fator de crescimento epidermal na recuperação da lesão. A bioinformática é importante para fechar o diagnóstico de dados de toda pesquisa; sem ela muitos dados ficam “perdidos”, sem significância e, assim, não se pode afirmar a veracidade desses dados.



### Lembre-se

As ferramentas de bioinformática têm sido usadas para o melhor entendimento de diversos dados. Nos trabalhos realizados em laboratórios, essas ferramentas avaliam diferentes questões biológicas.

## Avançando na prática

### Pratique mais!

#### Instrução

Desafiamos você a praticar o que aprendeu, transferindo seus conhecimentos para novas situações que pode encontrar no ambiente de trabalho. Realize as atividades e depois compare-as com a de seus colegas.

#### "A Importância da Biotecnologia na Ciência"

<b>1. Competência Geral</b>	A competência geral desta disciplina é conhecer e ser capaz de aplicar a diferentes contextos as principais técnicas de Biologia Molecular e da Biotecnologia.
<b>2. Objetivos de aprendizagem</b>	Conhecer os procedimentos para clonagem e sequenciamento de DNA, as técnicas de análise de DNA, RNA e proteínas e os fundamentos e aplicações da Biotecnologia.
<b>3. Conteúdos relacionados</b>	Bioinformática na identificação de novos produtos biotecnológicos; novas aplicações biotecnológicas em saúde; produtos e processos biotecnológicos com potencial aplicação em meio ambiente.
<b>4. Descrição da SP</b>	Foi realizado no laboratório da professora Denise um estudo de cicatrização do tendão calcâneo em animais. Esses animais foram submetidos a uma terapia com laser que possui ação cicatrizante e tiveram uma concentração de plasma rico em plaquetas (PRP) implantadas na região que estava com lesão. Para dosagem da área de cicatrização, após o tempo necessário para regeneração, foi usado o método de Biotecnologia conhecido como histometria, que consegue quantificar fibroblastos, e outro conhecido como espectroscopia Raman, que determina a presença de colágeno tipo I e III. Ambos os tipos celulares devem estar

(continua)



	envolvidos no processo de cicatrização. As lesões estavam localizadas no terço médio do tendão calcâneo e foram tratadas com laser que irradiou com energia de 7,0 J/cm <sup>2</sup> em cada um de três pontos da lesão. A análise histométrica foi realizada nos cortes histológicos que foram corados com Hematoxilina e Eosina (H&E). As lâminas de histologia que mostrarem a presença dessas células devem ser digitalizadas e avaliadas pelo programa "Image J versão 1.46r®".
5. Resolução da SP	Os resultados obtidos de animais tratados com <i>laser</i> , mostrou uma concentração relativamente alta de colágeno I, II e III, quando comparada ao grupo controle. O tratamento com PRP junto ao <i>laser</i> (830 nm) demonstrou resultados ainda melhores tanto para a formação de fibroblastos quanto para a concentração de colágeno I, acelerando o processo de cicatrização no tratamento de lesões no tendão.



### Lembre-se

A terapia do PRP com o *laser* favorece a regeneração de tendões no processo inflamatório, dando condições para o tecido se regenerar. Essa regeneração permite a ação das plaquetas que ativam outras células que se reproduzem, formam novos vasos sanguíneos no local e possibilitam a chamada "angiogênese", melhorando a nutrição do tecido e recuperando a lesão.



### Faça você mesmo

Chegamos em nossa última seção da disciplina de Biologia Molecular e Biotecnologia e é importante saber usar a Biotecnologia para o bem, aplicando os conhecimentos vivenciados nesta disciplina. Sendo assim, vamos encerrar lembrando um pouco daquilo que contribui para a melhora da qualidade de vida das pessoas e do meio ambiente confeccionando um *folder* do que seria essencial para que pudéssemos impulsionar o avanço tecnológico da saúde e meio ambiente, diante da situação que encontramos hoje em nossa realidade.

### Faça valer a pena!

**1.** Os principais materiais usados na bioinformática são os dados biológicos dos diversos experimentos, chamados dados quantitativos e qualitativos. Com essa necessidade da avaliação e aplicação de análise de dados disponíveis, busca-se:

a) O cultivo de células *in vitro* para realização de experimentos.

- b) O auxílio da informática no desenvolvimento de programas de computadores e softwares.
- c) O auxílio do cDNA para produção de proteínas.
- d) O uso de metodologias como o PCR e o RT-PCR.
- e) O uso do gel de poliacrilamida – SDS (SDS-PAGE).

**2.** A bioinformática trabalha com a criação, o desenvolvimento e a operação de determinado \_\_\_\_\_ e componentes que ajudam na \_\_\_\_\_, na \_\_\_\_\_ e na \_\_\_\_\_ dos dados. Para que se saiba cada vez mais sobre a necessidade da análise de dados por meio de \_\_\_\_\_ e inovações tecnológicas diversas, torna-se necessário a atenção no trabalho de programas de computadores, acompanhado do avanço tecnológico. Assinale a alternativa que completa corretamente a sentença:

- a) Banco de dados – coleta – organização – interpretação – equipamentos.
- b) Banco de dados – forma – organização – relação – experimentos.
- c) Relatório – coleta – organização – qualidade – equipamentos.
- d) Relatório – forma – interpretação – qualidade – experimentos.
- e) Banco de dados – coleta – distribuição – qualidade – experimentos.

**3.** A bioinformática é definida como uma disciplina de caráter biológico e científico, que trabalha:

- a) Os aspectos do gene, bem como a coleta e a interpretação dos dados.
- b) Os aspectos da biologia, bem como a análise e a interpretação dos dados.
- c) Os aspectos da célula, bem como o processamento de RNA e DNA.
- d) Os aspectos do gene, bem como a confecção do cDNA.
- e) Os aspectos da biologia, da membrana, do núcleo e do citoplasma celular.

# Referências

AGEITEC. **Fixação biológica do nitrogênio**. Disponível em: <[http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/cana-de-acucar/arvore/CONTAG01\\_31\\_711200516717.html](http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/cana-de-acucar/arvore/CONTAG01_31_711200516717.html)>. Acesso: 3 abr. 2016.

ALVES, Emanuele Amorim; GUIMARÃES, Anna Christina R. Cultivo celular. In: MOLINARO, Etelcia; CAPUTO, Luzia; AMENDOEIRA, Regina. **Conceitos e métodos para a formação de profissionais em laboratório de saúde**. v. 2. EPSJV: Rio de Janeiro, 2010. Disponível em: <[http://www.epsjv.fiocruz.br/upload/d/capitulo\\_5\\_vol2.pdf](http://www.epsjv.fiocruz.br/upload/d/capitulo_5_vol2.pdf)>. Acesso em: 3 abr. 2016.

BALDI, Brigitte; MOORE, David S. **A prática da estatística nas ciências da vida**. 2. ed. Grupo GEN: Rio de Janeiro, 2014.

BYDLOWSKI, Sérgio. P. Características biológicas das células-tronco mesenquimais **Rev. Bras. Hematol. Hemoter.**, v. 31, supl. 1, São Paulo, maio, 2009. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1516-84842009000700006&lng=pt&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-84842009000700006&lng=pt&nrm=iso)>. Acesso em: 3 abr. 2016.

CANHOS, Vanderlei Perez; MANFIO, Gilson Paulo. **Recursos Microbiológicos para Biotecnologia**. Disponível em: <[www.mct.gov.br/upd\\_blob/0000/439.pdf](http://www.mct.gov.br/upd_blob/0000/439.pdf)>. Acesso em: 3 abr. 2016.

CARVALHO, Cristina Valleta; RICCI, Giannina; AFFONSO, Regina. **Guia de práticas em biologia molecular**. Yendis: São Caetano do Sul, 2010.

DINIZ, Mariana de Oliveira; FERREIRA, Luís Carlos de Souza. Biotecnologia aplicada ao desenvolvimento de vacinas. **Revista Estudos Avançados**, São Paulo, v. 24, n. 70, 2010. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/ea/v24n70/a03v2470.pdf>>. Acesso em: 3 abr. 2016.

ESTRELA, Carlos. **Metodologia científica**. 2. ed. Artes Médicas: São Paulo, 2005.

GUERIN-MARCHAND, Caludine. **Manipulações genéticas**. EDUSC: Bauru, 1999.

GUIMARÃES, Maria; NOGUEIRA, Pablo. Um vilão de muitas caras. **Revista Fapesp**, jun., 2015. Disponível em: <[http://revistapesquisa.fapesp.br/wp-content/uploads/2015/06/016-23\\_CAPA-Dengue\\_232.pdf?dc5f6f](http://revistapesquisa.fapesp.br/wp-content/uploads/2015/06/016-23_CAPA-Dengue_232.pdf?dc5f6f)>. Acesso em: 3 abr. 2016.

LABORATÓRIO MAX FEFFER. **Programas para bioinformática**. Disponível em: <[http://genfis40.esalq.usp.br/genfis/index.php?option=com\\_content&view=articl](http://genfis40.esalq.usp.br/genfis/index.php?option=com_content&view=articl)>

e&id=60&Itemid=69>. Acesso em: 3 abr. 2016.

LESK, Arthur M. **Introdução à bioinformática**. 2. ed. Artmed: Porto Alegre, 2008.

MALAJOVICH, Maria Antonia. **Biotecnologia**. Rio de Janeiro: BTeduc, 2011. Disponível em: <[http://www.bteduc.bio.br/livros/Biotecnologia\\_2012.pdf](http://www.bteduc.bio.br/livros/Biotecnologia_2012.pdf)>. Acesso em: 3 abr. 2016.

MONTEIRO-LOMELI, Monica; RUMJANEK, Franklin. D. **Técnicas em Biociências -Protocolos comentados para o laboratório**. Medbook: Rio de Janeiro, 2013.

MORAES, Pablo de. **Pesquisas com células-tronco no tratamento do diabetes**. Disponível em: <<http://www.endocrino.org.br/pesquisas-com-celulas-tronco-no-tratamento-do-diabetes/>>. Acesso: 3 abr. 2016.

OLIVEIRA, Valéria Maia de; SETTE, Lara Durães; FANTINATTI-GARBOGGINI Fabiana. Preservação e Prospecção de Recursos. **Multiciência**, Unicamp – DRM, Campinas, out., 2006. Disponível em: <[https://www.multiciencia.unicamp.br/artigos\\_07/a\\_08\\_7.pdf](https://www.multiciencia.unicamp.br/artigos_07/a_08_7.pdf)>. Acesso em: 3 abr. 2016.

QUEIROZ, Alexandre. **Apostila de Introdução à Bioinformática**. Caiacó: UFRN, 2002. Disponível em: <[http://genfis40.esalq.usp.br/genfis/index.php?option=com\\_phocadownload&view=category&download=10:introducao-a-bioinformatica&id=7:apostilas-e-artigos&Itemid=68](http://genfis40.esalq.usp.br/genfis/index.php?option=com_phocadownload&view=category&download=10:introducao-a-bioinformatica&id=7:apostilas-e-artigos&Itemid=68)>. Acesso em: 3 abr. 2016.

ROSSI, Maria Isabel D. BOROJEVIC, Radovan. Terapias celulares do miocárdio com células da medula óssea: critérios de qualidade e perspectivas. **Rev. Bras. Hematol. Hemoter.**, v. 31, supl. 1, São Paulo, maio, 2009. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1516-84842009000700013&lng=pt&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-84842009000700013&lng=pt&nrm=iso)>. Acesso em: 3 abr. 2016.

SILVA, Isabela Machado da; LOPES, Rita de Cássia Sobreira. Reprodução assistida e relação conjugal durante a gravidez e após o nascimento do bebê: uma revisão da literatura. **Estud. Psicol.**, v. 14, n. 3, Natal, set./dez., 2009. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1413-294X2009000300006&lng=pt&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1413-294X2009000300006&lng=pt&nrm=iso)>. Acesso em: 3 abr. 2016.

VERLI, Hugo. **Bioinformática: da biologia à flexibilidade moleculares**. SBBq: São Paulo, 2014. Disponível em: <<http://www.ufrgs.br/bioinfo/ebook/>>. Acesso em: 3 abr. 2016.

VITOLO, Michele. **Biotecnologia Farmacêutica**. São Paulo: Blucher, 2015.

UFRGS. **Bioprospecção**. Disponível em: <<http://www.ufrgs.br/patrimoniogenetico/conceitos-e-definicoes/bioprospeccao>>. Acesso em: 3 abr. 2016.

WENDLING, Ivar. Propagação Vegetativa. **I Semana do Estudante Universitário**, Corumbá, 2003. Disponível em: <<http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/50925/1/Wendling.pdf>>. Acesso em: 3 abr. 2016.