

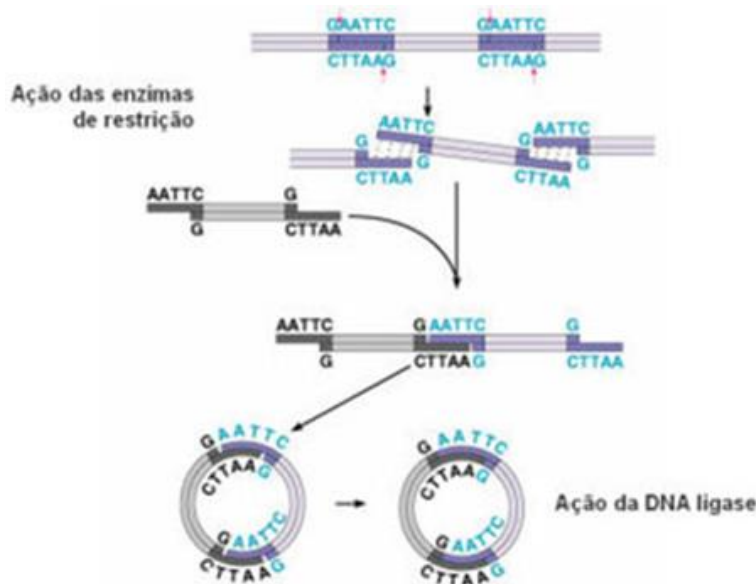
## Engenharia genética - Gourmet

### Resumo

A engenharia genética consiste em técnicas de manipulação e recombinação dos genes, utilizando conhecimentos científicos de diversas áreas, seja de processos bioquímicos e metabólicos, anabolismo nuclear e genética. A partir dessas áreas e experimentos é possível reconstruir e mesmo criar novas sequências de DNA ou mesmo seres vivos. A engenharia genética pode ser aplicada em diversos campos, sendo os mais relacionados ao nosso dia a dia a medicina e a agropecuária.

Para todas essas técnicas serem possíveis de acontecer, a engenharia genética utiliza enzimas endonucleases, que irão cortar o DNA em fragmentos específicos, e enzimas ligases, que irão unir os fragmentos.

- **Enzimas de Restrição (endonucleases):** responsáveis por cortar o DNA em pontos específicos
- **DNA Ligase:** unem os fragmentos de DNA



### Clonagem

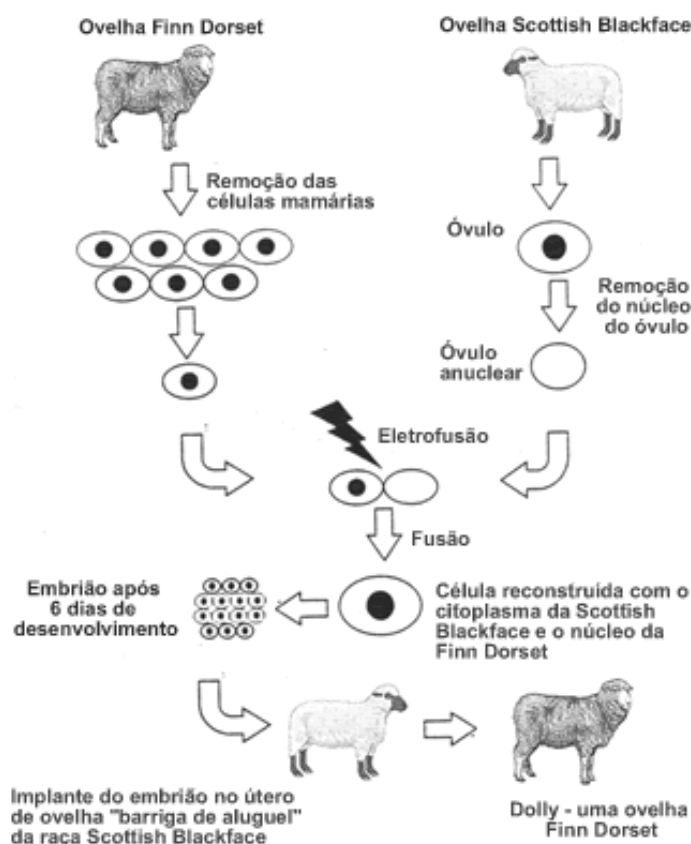
É quando temos indivíduos geneticamente idênticos. Ela pode acontecer de maneira natural (divisão binária de bactérias, gêmeos homozigotos) ou com a ação humana, que neste caso consiste em colocar o núcleo de um ser vivo em um óvulo anucleado de um outro ser vivo.

A ovelha Dolly é um exemplo clássico e bastante conhecido, e ela viveu durante seis meses apenas, devido ao envelhecimento precoce devido ao desgaste dos telômeros (extremidades do DNA, que, quando curtos, realizam menos mitoses e são indicativos de idade celular avançada). No Brasil também tivemos um caso de clonagem de caprino, com a clonagem da bezerra Vitória em 2001.

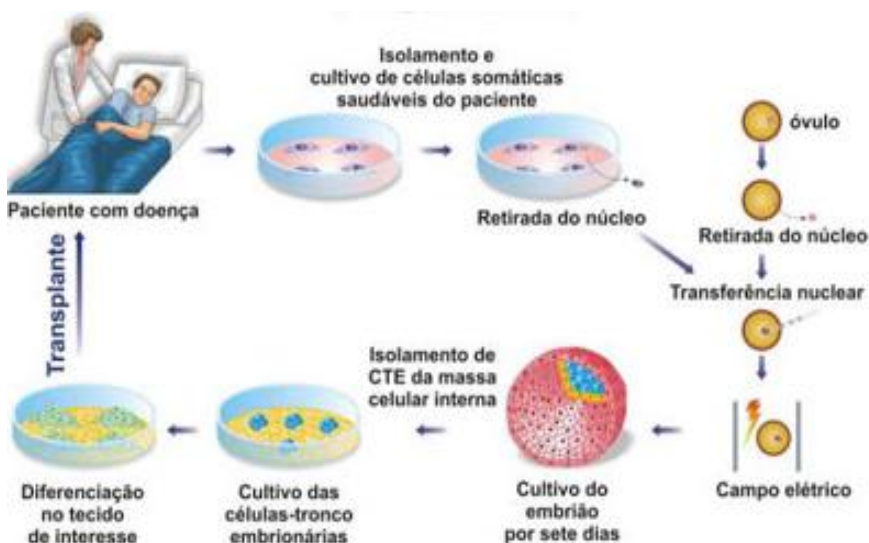
A clonagem tem principalmente duas aplicações:

- **Clonagem reprodutiva:** Objetiva reproduzir um novo ser geneticamente igual a um já existente. Implementa-se o núcleo de uma célula somática adulta em um óvulo anucleado. O embrião formado é implementado em um útero onde irá se desenvolver o clone. É o caso da criação de Dolly, citada anteriormente. Importante lembrar que casos de clonagem reprodutiva em humanos não são feitos devido a questões bioéticas, éticas, sociais ou até mesmo religiosas que podem influenciar nas decisões. Na agropecuária, este processo é

importante para manter os animais mais fortes e eficientes no gado ou haras, sem precisar contar com as incertezas de um cruzamento (que não necessariamente dará uma prole com as características desejadas).



- **Clonagem terapêutica:** Retira-se o núcleo de uma célula somática de um paciente e o implementa em um óvulo anucleado. Este óvulo então se desenvolve *in vitro*, ou seja, em uma placa em condições artificiais, durante alguns dias. Quando as células estão desenvolvidas o suficiente, sofrem a diferenciação do tecido desejado e são implementados no paciente, com objetivo de recuperar ou reconstruir um tecido.



Existem também técnicas para a clonagem vegetal, onde uma planta parental é utilizada para produzir mudas replicadas, com mesma composição genética. É um processo que também pode ser considerado como reprodução assexuada.

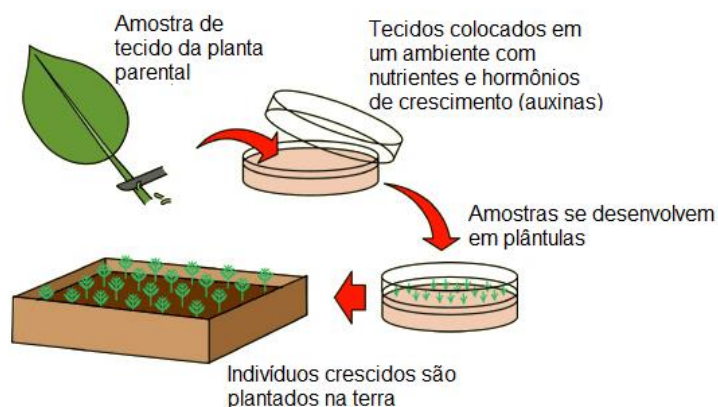
- **Enxertia:** Ocorre quando há a união dos tecidos entre duas plantas, fazendo com que esses tecidos se unam e vire uma planta só. A planta inserida é o enxerto, e a base é o porta-enxerto, com as funções de transporte de substâncias. O porta-enxerto deve ser uma planta de crescimento rápido, e essa técnica é utilizada para recuperação de plantações que foram atacadas por pragas, por exemplo, visto que o crescimento do enxerto vai ser mais rápido por se aproveitar das raízes do porta-enxerto.



- **Estaquia:** Corta-se um galho da planta mãe e, ao enterrar este galho, ele cria raízes e forma uma nova planta. Essa técnica é utilizada para criar novas mudas e aumentar o tamanho da plantação.

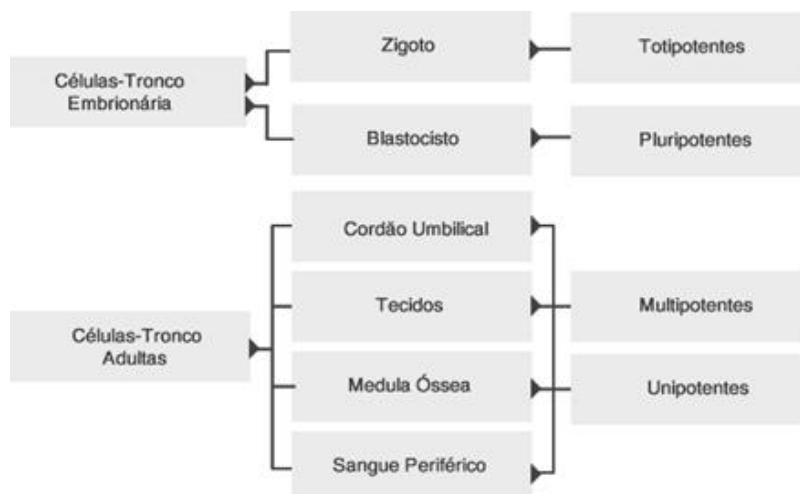


- **Cultura de tecidos:** Fragmentos de tecidos são retirados da planta mãe e colocados em uma gelatina com nutrientes e hormônios do crescimento. Esses fragmentos de tecido se desenvolvem em plântulas que ao atingirem determinado tamanho, são transferidas para um vaso com terra para o desenvolvimento completo das raízes e do novo vegetal. Essa técnica é utilizada para produção de mudas com finalidade comercial, por exemplo, venda de orquídeas.



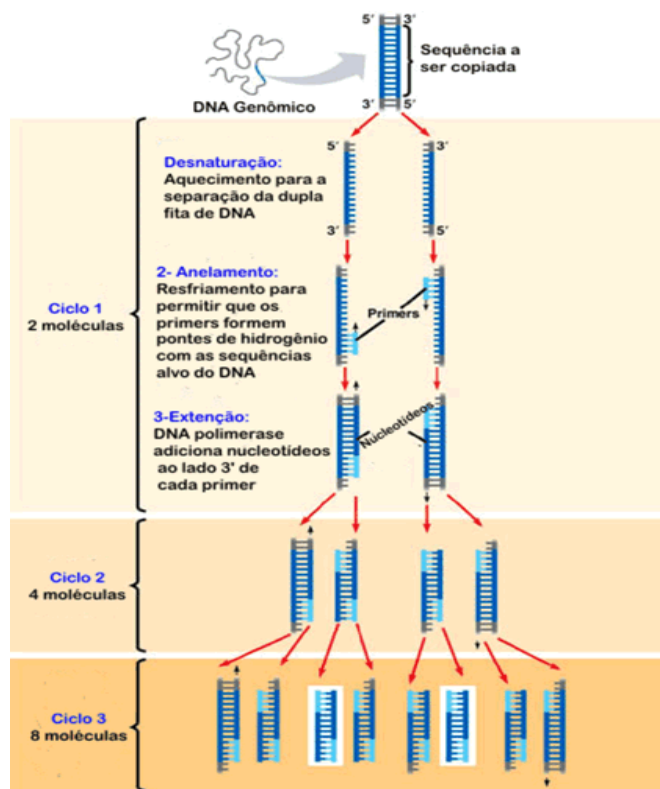
## Células-tronco

Células-tronco são células com capacidade de originar diferentes células do corpo humano e formar diferentes tecidos. Elas podem ser encontradas em embriões, sendo chamadas de células-tronco embrionárias, que podem ser **totipotentes** (totalmente indiferenciadas) ou **pluripotentes** (com grau de diferenciação equivalente ao seu folheto embrionário) e em vários outros órgãos e tecidos humanos, como a medula óssea e a pele (células-tronco adultas, também chamadas de **multipotentes**). Atualmente as células-tronco do cordão umbilical podem ser retiradas e armazenadas, com aplicação clínica, semelhantes às da clonagem terapêutica.



## Reação em Cadeia da Polimerase (PCR)

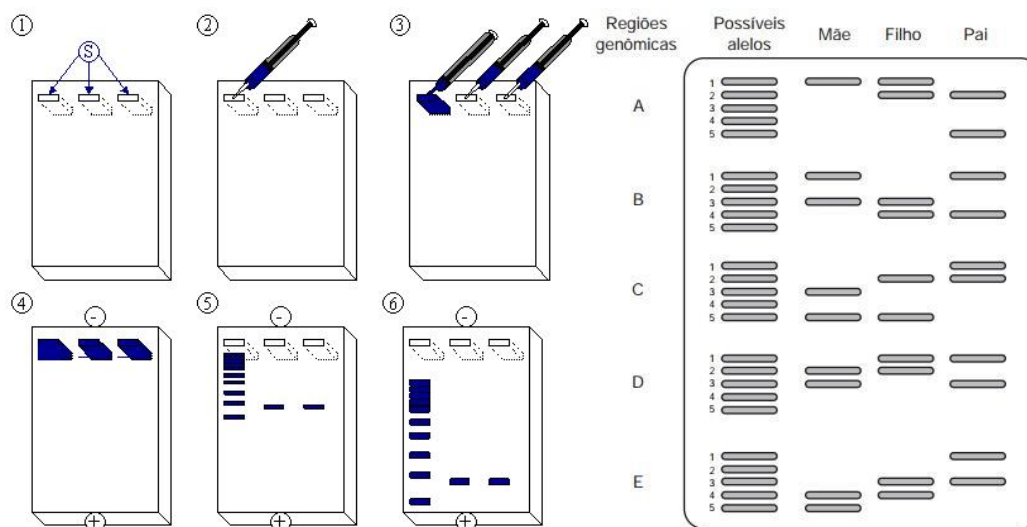
Nesta técnica, ocorre a fragmentação da molécula de DNA ao colocá-la em altas temperaturas. Estes fragmentos são adicionados junto com primers, moléculas que iniciam a autoduplicação, e com enzimas chamadas de TAQ Polimerase. Quando a temperatura abaixa, a TAQ Polimerase trabalha em conjunto com os primers para a formação de novas cadeias de DNA. Estas novas cadeias serão cópias dos fragmentos formados com a quebra do DNA.



## Testes de DNA (DNA Fingerprint)

A partir do DNA Fingerprint, é possível reconhecer bases de DNA, sendo utilizada principalmente quando é necessário fazer o reconhecimento de pessoas, seja em um teste de paternidade ou em uma análise criminalista. Neste processo, o DNA é cortado em diversos fragmentos por enzimas de restrição e são colocados para análise em Eletroforese. Na eletroforese as amostras são colocadas em uma placa com um gel, e uma corrente elétrica é liberada, fazendo com que os fragmentos do DNA se desloquem. Os fragmentos maiores, mais pesados, não se movem muito, ficando na parte mais de cima, e os menores, mais leves, vão para parte mais inferior da placa. A partir disto, é possível ver quais fragmentos são iguais nas diferentes amostras.

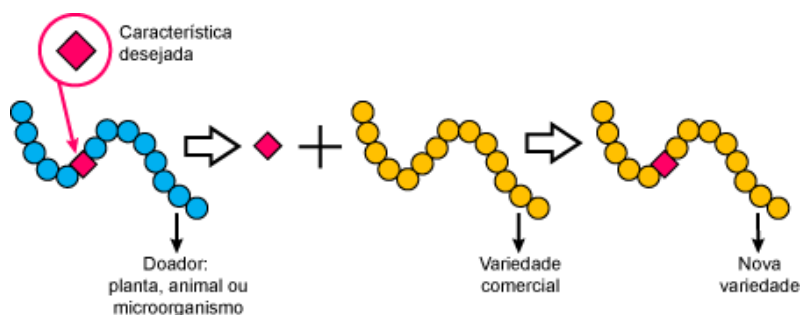
No caso de uma análise criminalística, o DNA testado e o DNA do culpado apresentação as mesmas faixas (que podem ser chamadas de bandas) coloridas, indicando que ali há um fragmento de DNA. No caso de testes de paternidade, o DNA da criança terá metade das faixas iguais as da mãe, e a outra metade iguais as do pai.



## OGM e Transgenia

OGM, ou organismos geneticamente modificados são aqueles que tiveram sua sequência gênica alterada ou modificada de alguma forma. Caso este organismo tenha essas modificações sem receber material genético de outra espécie, ele será um OGM simples, apenas. Caso haja implementação de material genético de espécies diferentes, teremos um transgênico.

Os transgênicos têm como objetivo melhorar e aprimorar um organismo a partir da implementação de novas características ao organismo, como por exemplo resistência a pragas (agricultura) e produção de insulina (importante no tratamento de diabetes), entre outros.



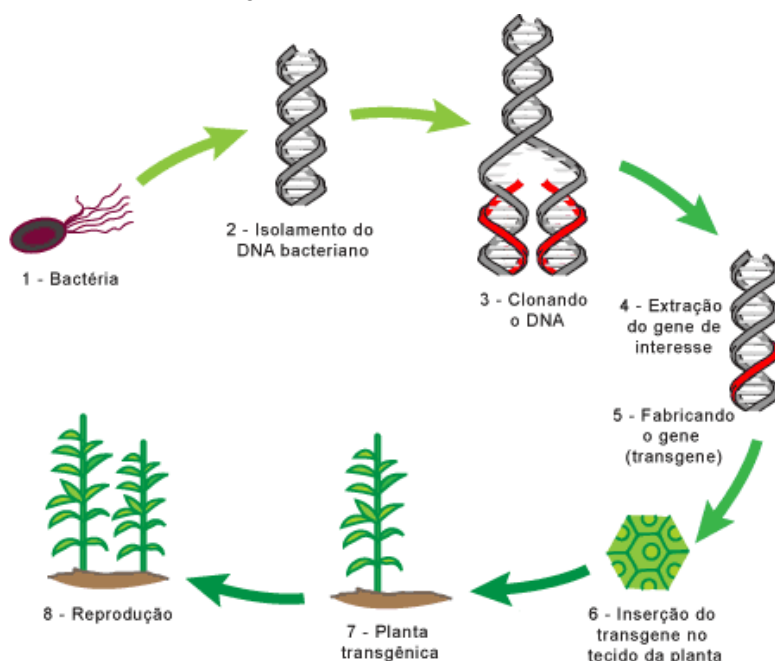
Existem discussões acerca da utilização de transgênicos, com fortes pontos a favor e contra a utilização destes métodos]

### • VANTAGENS

- Expansão do conhecimento científico
- Aumento da qualidade nutritiva e da produtividade (maior resistência às pragas)
- Redução de custos
- Uso mais eficiente do solo (ex. plantio direto), evitando erosão

### • DESVANTAGENS

- Ignora agrossistemas sustentáveis e seu uso no ambiente
- Atende apenas grandes produtores
- Aumento dos casos de alergia
- Seleção de pragas resistentes
- Perda de biodiversidade e erosão genética

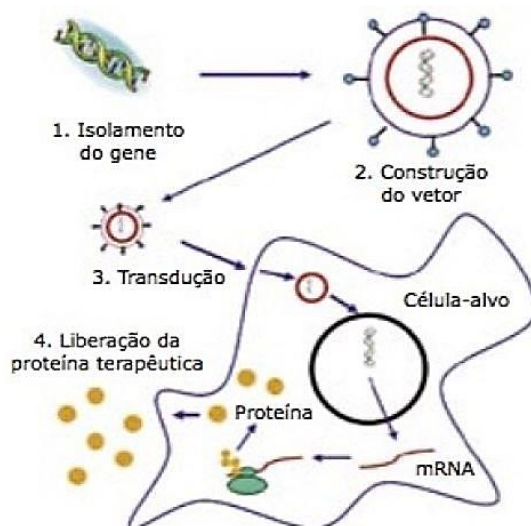




## Terapia gênica

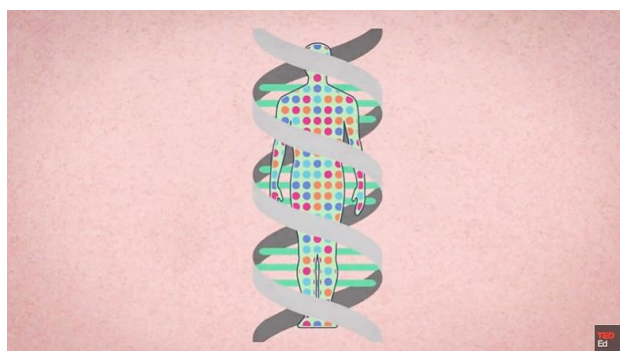
Na terapia gênica, há a transferência de material genético com objetivo de substituir ou completar um código genético, prevenindo ou curando determinadas doenças hereditárias. Esse DNA pode ser transferido diretamente entre as células (terapia *in vivo*) ou ele pode ser retirado, replicado em laboratório, e depois utilizado no tratamento (terapia *ex vivo*).

O DNA é inserido na célula a partir de vetores, que transportam a molécula para o núcleo celular. Ao ser incorporado no material genético, este fragmento será transcrito e traduzido, produzindo as proteínas de interesse.



## Projeto Genoma Humano

O projeto genoma humano teve como objetivo determinar a sequência das bases nitrogenadas do DNA humano, identificando e mapeando todos os genes presentes nos 24 cromossomos existentes na espécie humana (22 autossômicos e os 2 sexuais, o X e o Y). A partir dessas informações, é possível identificar áreas com anomalias, propensão a doenças ou mesmo melhor entendimento do desenvolvimento do organismo e das células.



## Novos rumos

A utilização de biotecnologia tem exercido mudanças significativas no nosso cotidiano. Como perspectivas, há estudos para tornar mais acessível a determinação da sequência de bases de cada indivíduo, podendo, assim, reconhecer mutações e prever a ação de medicamentos.

O câncer ainda é um desafio. Sabemos que são causados por diversas mutações e a interferência de forma específica nessas células poderia melhorar as taxas de cura.

Doenças genéticas causadas por mutações em genes importantes, como anemia falciforme e distrofia muscular, poderiam ser curadas com a incorporação do gene em falta ou substituição do gene que sofreu a mutação.

## Exercícios

---

1. Se retirarmos o núcleo de uma célula-ovo de rã e o substituirmos por outro núcleo diploide de uma célula de tecido epitelial normal de rã já adulta, a nova célula-ovo assim formada será capaz de produzir outra rã normal. Dentre as alternativas a seguir, a que apresenta a melhor explicação sobre o que ocorre neste caso, em relação à sequência funcional do DNA da célula diploide doadora, é:
  - a) Foi integralmente inativada.
  - b) Foi integralmente mantida ativa.
  - c) Expressou-se como na célula epitelial.
  - d) Expressou-se como um gameta haploide.
  - e) Deletou trechos de genes para diferenciar as células uma das outras.
  
2. O nascimento da ovelha Dolly foi considerado o primeiro clone de mamífero gerado artificialmente. Um dos objetivos dessa pesquisa é a melhoria da pecuária, através da formação de rebanhos homogêneos. Clones, no entanto, ocorrem naturalmente no cotidiano, lembra o geneticista Ademir Freire Maia em um artigo do Boletim "Germinis" do Conselho Federal de Biologia. Qual seria a desvantagem biológica de um rebanho de clones?
  - a) Maior variabilidade genética
  - b) Maior expectativa de duração da vida do clone
  - c) Um rebanho de clones seria constituído de indivíduos geneticamente idênticos e igualmente suscetíveis ao impacto ambiental.
  - d) Apresenta baixa necessidade tecnológica para ser realizada.
  - e) Capacidade de produção em massa de novas ovelhas.
  
3. As luciferases são enzimas que catalisam reações biológicas transformando energia química em energia luminosa. No vaga-lume há um gene que determina produção de luciferase. Por meio da engenharia genética, esse gene foi transferido para uma célula vegetal, que foi regada com luciferina. O resultado desse experimento indica que a planta:
  - a) incorporou um segmento de RNA do vaga-lume, a partir do qual as células da planta produziram luciferase, de forma contínua.
  - b) incorporou um segmento de RNA do vaga-lume, a partir do qual as células da planta produziram DNA e luciferase.
  - c) incorporou um segmento de DNA do vaga-lume, que possibilitou às células da planta a produção de luciferase, enzima que catalisa a reação da luciferina para a formação de luz.
  - d) incorporou um segmento de DNA do vaga-lume, que não possibilitou a produção de RNA nem de luciferase.
  - e) não expressou o gene do vaga-lume.



4. Um novo método para produzir insulina artificial que utiliza tecnologia de DNA recombinante foi desenvolvido por pesquisadores do Departamento de Biologia Celular da Universidade de Brasília (UnB) em parceria com a iniciativa privada. Os pesquisadores modificaram geneticamente a bactéria *Escherichia coli* para torná-la capaz de sintetizar o hormônio. O processo permitiu fabricar insulina em maior quantidade e em apenas 30 dias, um terço do tempo necessário para obtê-la pelo método tradicional, que consiste na extração do hormônio a partir do pâncreas de animais abatidos.

Ciência Hoje, 24 abr. 2001. Disponível em: <http://cienciahoje.uol.com.br> (adaptado).

A produção de insulina pela técnica do DNA recombinante tem, como consequência,

- a) o aperfeiçoamento do processo de extração de insulina a partir do pâncreas suíno.
  - b) a seleção de microrganismos resistentes a antibióticos.
  - c) o progresso na técnica da síntese química de hormônios.
  - d) impacto favorável na saúde de indivíduos diabéticos.
  - e) a criação de animais transgênicos.
5. A estratégia de obtenção de plantas transgênicas pela inserção de transgenes em cloroplastos, em substituição à metodologia clássica de inserção do transgene no núcleo da célula hospedeira, resultou no aumento quantitativo da produção de proteínas recombinantes com diversas finalidades biotecnológicas. O mesmo tipo de estratégia poderia ser utilizada para produzir proteínas recombinantes em células de organismos eucarióticos não fotossintetizantes, como as leveduras, que são usadas para produção comercial de várias proteínas recombinantes e que podem ser cultivadas em grandes fermentadores. Considerando a estratégia metodológica descrita, qual organela celular poderia ser utilizada para inserção de transgenes em leveduras?
- a) Lisossomo.
  - b) Mitocôndria.
  - c) Peroxissomo.
  - d) Complexo golgiense.
  - e) Retículo endoplasmático.
6. Duas doenças não infecciosas que preocupam o homem moderno são a diabetes e o mal de Alzheimer. Enquanto a cura de diabetes está sendo pesquisada através da engenharia genética, testes de laboratório utilizando a melatonina indicaram bons resultados para controlar o mal de Alzheimer. A identificação de genes responsáveis por diversas doenças, como a diabetes, por exemplo, pode possibilitar, no futuro, o uso da terapia gênica. Essa técnica tem por objetivo "corrigir o efeito da mutação"...
- a) induzindo mutações nos genes responsáveis pela doença.
  - b) inserindo cópias extras do alelo mutado.
  - c) substituindo o alelo mutado ou adicionando uma cópia correta do alelo.
  - d) produzindo proteínas funcionais em organismos de outra espécie.
  - e) inibindo a expressão do gene mutado nas células secretoras da proteína.

7. O resultado de um teste de DNA para identificar o filho de um casal, entre cinco jovens, está representado na figura. As barras escuras correspondem aos genes compartilhados.



Qual dos jovens é o filho do casal?

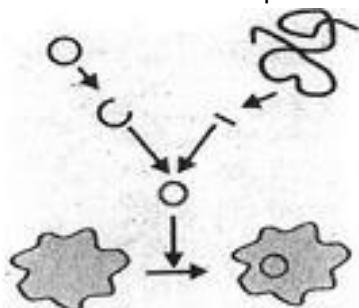
- a) I
  - b) II
  - c) III
  - d) IV
  - e) V
8. "Nasceu no dia 27 de março de 2014, na Universidade de Fortaleza - Unifor, a primeira cabra clonada e transgênica da América Latina. Chamada pelos cientistas de Gluca, ela possui uma modificação genética que deverá fazer com que ela produza em seu leite uma proteína humana chamada glucocerebrosidase, usada no tratamento da doença de Gaucher. Trata-se de uma doença genética relativamente rara, porém extremamente custosa para o sistema público de saúde. Segundo informações levantadas pelos pesquisadores, o Ministério da Saúde gasta entre R\$ 180 milhões e R\$ 250 milhões por ano com a importação de tratamentos para pouco mais de 600 pacientes com Gaucher no Brasil. As drogas importadas são baseadas em proteínas produzidas in vitro, cultivadas em células transgênicas de hamster ou cenoura. A proposta da pesquisa brasileira é produzir a glucocerebrosidase no País, no leite de cabras transgênicas, a custos muito inferiores ao da produção em células em cultura."

Texto adaptado do Jornal O Estado de São Paulo, 14/04/2014.

Baseando-se em alguns conceitos citados pelo texto, como transgênicos e clonagem, marque a alternativa CORRETA.

- a) Clonagem é a produção de indivíduos geneticamente iguais. É um processo de reprodução sexuada que resulta na obtenção de cópias geneticamente idênticas do ser vivo.
- b) A clonagem pode ser obtida através da transferência do núcleo de uma célula somática da cabra que originou a Gluca, para um óvulo anucleado.
- c) Sabe-se que a clonagem é um processo fácil de ser obtido. Em 1996, a ovelha Dolly nasceu depois de apenas 2 tentativas que fracassaram.
- d) Os transgênicos são organismos vivos modificados em laboratório, onde se altera o código genético de uma espécie com introdução de uma ou mais sequências de DNA, provenientes do mesmo organismo.
- e) Transgênicos e Organismos Geneticamente Modificados (OGM) são sinônimos. Todo transgênico é um organismo geneticamente modificado, e todo OGM é um transgênico.

9. Alguns grupos de pesquisa brasileiros estão investigando bactérias resistentes a íons cloreto, como *Thiobacillus prosperus*, para tentar compreender seu mecanismo de resistência no nível genético e, se possível, futuramente transferir genes relacionados com a resistência a íons cloreto para bactérias não resistentes usadas em biolixiviação (um tipo de biorremediação de efluentes), como *Acidithiobacillus ferrooxidans*. Considerando as principais técnicas utilizadas atualmente em biologia molecular e engenharia genética, a transferência de genes específicos de uma espécie de bactéria para outra deve ser feita através
- de cruzamentos entre as duas espécies, produzindo um híbrido resistente a íons cloreto.
  - da transferência para a bactéria não resistente de um plasmídeo recombinante, que contenha o gene de interesse previamente isolado da bactéria resistente, produzindo um Organismo Geneticamente Modificado (OGM).
  - da transferência de todo o genoma da bactéria resistente para a nova bactéria, formando uma espécie nova de bactéria em que apenas o gene de interesse será ativado.
  - da simples clonagem da bactéria resistente, sem a modificação da bactéria suscetível a íons cloreto.
  - da combinação do genoma inteiro da bactéria suscetível com o genoma da bactéria resistente, formando um organismo quimérico, o que representa uma técnica muito simples em organismos sem parede celular, como as bactérias.
10. “A Engenharia Genética, mais apropriadamente chamada tecnologia do DNA recombinante, é um conjunto de técnicas que permite aos cientistas identificar, isolar e multiplicar genes dos mais diversos organismos. Envolve, frequentemente, o isolamento, a manipulação e a introdução do DNA num chamado ‘corpo de prova’, geralmente para exprimir um gene.” Conforme representado na figura abaixo, a utilização de vetores é uma das principais ferramentas dessas “novas possibilidades” da Engenharia Genética.



Essa importância do uso de vetores se justifica por que:

- Os plasmídios são encontrados no núcleo das células eucariotas e, ao serem transportados para as bactérias, podem carregar genes de interesse para serem copiados.
- Vírus, lipossomos e plasmídios, que funcionam como vetores, têm a função de promover a intensa proliferação da célula de interesse, quando nela são inseridos, como acontece com bactérias geneticamente modificadas.
- Os plasmídios permitem a manipulação do material genético do DNA de todas as células, uma vez que permitem tornar o DNA circular, de mais fácil manuseio pelos cientistas.
- Os plasmídios são formados por DNA bacteriano e, por não possuírem genes vitais à bactéria, podem ser manipulados, permitindo a inserção de genes, sem levar a bactéria à morte.
- Os lipossomos, claramente representados no esquema acima, constituem os principais vetores utilizados em Engenharia Genética, uma vez que são de fácil manipulação e podem entrar e sair livremente das células.

## Gabarito

---

1. **B**

Toda célula possui o mesmo material genético, ativando vários genes na vida embrionária. Se há a formação de um clone, com diversos tecidos e células DNA será expresso de modos distintos em diferentes células.

2. **C**

Um clone reduz a variabilidade genética, fazendo com que impactos ambientais atinjam maior número de indivíduos ao mesmo tempo.

3. **C**

A questão descreve um exemplo de transgenia, onde um fragmento de DNA do vagalume foi inserido, a partir de técnicas de engenharia genética, no material genético da planta, fazendo com que a proteína em questão seja sintetizada.

4. **D**

A técnica permite a obtenção de insulina em maior quantidade e em apenas um terço do tempo que levaria a técnica tradicional, o que causaria diretamente um impacto positivo na saúde dos diabéticos, dependentes deste hormônio para regulação de sua glicemia.

5. **B**

A mitocôndria, devido a sua origem endossimbiótica, possui DNA próprio. A presença deste DNA próprio favorece que essa organela seja utilizada para transgenia.

6. **C**

A terapia gênica consiste na transferência de material genético, visando a prevenção ou a cura de doenças. Ao substituir/adicionar alelos normais, a mutação seria eliminada.

7. **C**

A ausência da 3ª barra tanto na mãe como no pai, exclui a possibilidade dos filhos serem o I e o V. Com o mesmo raciocínio, podemos excluir os indivíduos II e IV, pela presença das barras inferiores, não presentes nos pais. Desse modo, o indivíduo compatível, que apresenta os trechos presentes em pelo menos um dos pais, é o número III.

8. **B**

Na clonagem, utiliza-se um núcleo diplóide, proveniente de uma célula somática, inserindo-o em um óvulo anucleado, para o desenvolvimento do novo indivíduo.

9. **B**

Ao transferir um plasmídeo com o gene de interesse para outras bactérias, criam-se organismos geneticamente modificados que, agora com esse fragmento de DNA no organismo, consegue se autoduplicar e manter essa característica na população.

10. **D**

Os plasmídeos são fragmentos de Dna, que ficam no citoplasma bacteriano e não são essenciais para a sobrevivência desses organismos, apresentando apenas genes complementares independentes do DNA cromossômico.