



Clonagem

"Como indicado por Johnson (1998), a clonagem envolve apenas genes. Não se clonam indivíduos, mas sim genomas. A clonagem não abole as interações complexas do genótipo com o ambiente na produção contínua do fenótipo (Dobzhansky, 1957)."

O termo clone é derivado da palavra grega Klón, que significa broto de planta que, uma vez quebrada, possui desenvolvimento semelhante à planta-mãe. Desta forma, a clonagem está relacionada à reprodução assexuada, o que pode levar a erros quando utilizada para animais vertebrados (SEIDEL, 1983), no entanto, em diferentes áreas da ciência, utiliza-se o termo clone. Na microbiologia, esta definição refere-se a uma população de microorganismos geneticamente idênticos. Já em biologia celular, clone está relacionado à multiplicação de determinadas células em cultivo. Clones, na biotecnologia da reprodução, refere-se à produção de indivíduos idênticos em larga escala (LUCAS-HAHN, 1995). A clonagem de embriões de mamíferos tornou-se possível com o desenvolvimento da técnica de transferência nuclear (T.N.), que consiste em promover a fusão de blastômeros, oriundos de um mesmo embrião doador de núcleos, com ovócitos anucleados, denominados de citoplasmas receptores.

O desenvolvimento desta biotécnica proporciona modelos animais valiosos para protocolos experimentais, dada a **uniformidade genética** destes indivíduos. Isto permite uma significativa redução no número de animais requeridos para protocolos experimentais, com validade estatística (ROBL e STICE, 1989). Esta técnica tem contribuído para o desenvolvimento de vários setores da biologia, como a biologia celular (interação núcleo citoplasma, reprogramação celular, metabolismo celular); a biologia molecular; a genética (produção de gêmeos monozigóticos) e a embriologia básica (influência materna na determinação do genoma, período de transição materno-zigótica, totipotência das células embrionárias), além de ensaios aplicados à bioclimatologia, farmacologia, nutrição e imunologia, entre outros.

Para que clonar humanos?

Com todas essas dificuldades, não surpreende que ocorram tantos insucessos na clonagem. Se a eficiência do processo gira em torno de 1%, o êxito está quase no limite do aleatório, apesar da sofisticação técnica crescente nessa área. No entanto, o que mais preocupa os pesquisadores é o fato de não se poder atribuir as falhas da clonagem a causas específicas -- uma mensagem clara para que os cientistas voltem à prancheta, antes de qualquer tentativa mais ousada. Por outro lado, o conhecimento obtido com as clonagens de carneiros, vacas, camundongos e porcos deixa bem claro que a clonagem de humanos não representa uma situação particularmente difícil do ponto de vista técnico. Em outras palavras, a clonagem do homem não deve reservar surpresas no contexto laboratorial. Assim que os problemas com as outras espécies forem superados -- e isso é só uma questão de tempo --, a clonagem do homem necessitará apenas de alguns pequenos ajustes.

Resta saber: para que clonar seres humanos? No caso de bovinos, caprinos e suínos, as vantagens são óbvias. E quanto a homens e mulheres? As pessoas, muitas vezes, esquecem que um clone não seria uma entidade instantânea. Ele teria que passar por uma gestação de nove meses e cresceria tal e qual seus semelhantes não clonados. Os clones teriam que ser educados e estariam sujeitos a influências talvez bem diversas daquelas que moldaram o indivíduo que doou o seu núcleo. Além disso, devido à 'norma de reação', os clones gerados podem até assumir aparências distintas daquela do clone fundador. Segundo essa norma, mesmo que uma característica seja ditada pela constituição genética, o ambiente precisa 'permitir' a manifestação plena do gene -- uma criança filha de pais altos (com predisposição genética para ser alta) não crescerá como devia se não se alimentar corretamente em certa fase da vida.

Transgênicos

Animais e Plantas transgênicas :Animais e plantas transgênicas resultam de experimentos de engenharia genética nos quais o material genético é movido de um organismo a outro, visando a obtenção de características específicas. Em programas tradicionais de cruzamentos, espécies diferentes não se cruzam entre si. Com essas técnicas transgênicas, materiais gênicos de espécies divergentes podem ser incorporados por uma outra espécie de modo eficaz. O organismo transgênico apresenta características impossíveis de serem obtidas por técnicas de cruzamento tradicionais. Por exemplo, genes produtores de insulina humana podem ser transfetados em bactéria *E. coli*. Essa bactéria passa a produzir grandes quantidades de insulina humana que pode ser utilizada com fins medicinais.

Animais transgênicos: cópias de um transgene são usualmente injetadas diretamente dentro de um ovo fertilizado, o qual é implantado diretamente no trato reprodutivo da fêmea. Entretanto, há dificuldades em se controlar com precisão o local, ao longo do cromossomo, onde ocorrerá a inserção desse transgene. Isso pode causar variação na maneira de expressão do transgene, podendo inclusive destruir um gene já presente no organismo. Percebe-se que este processo é trabalhoso e pouco eficiente. Menos de 5% de todos os embriões manipulados apresentam sucessos. Novos métodos vem sendo estudados. **Plantas transgênicas**: todas as células de uma planta apresentam a capacidade de se desenvolver numa planta (são conhecidas como células totipotentes). Assim, a inserção dos transgenes é relativamente simples. O transgene pode ser introduzido dentro de uma única célula através de uma variedade de técnicas físicas e biológicas, incluindo bactérias ou derivados que carregam novos genes dentro das células. Isso acaba por regenerar uma planta transgênica. Técnicas de culturas de tecido permitem que estas células transformadas sejam propagadas de forma a permitir o desenvolvimento de plantas transgênicas

Os passos do processo:

- *1-O gene escolhido (extraído de outro organismo) é inserido no plasmídeo Ti,*
- *2- O plasmídeo, contendo o gene de interesse, é inserido na bactéria,*
- *3- A bactéria infecta a planta, introduzindo nela o seu DNA,*
- *4- O gene de interesse da planta associa-se ao DNA da planta,*
- *5- As células modificadas (que foram infectadas pela bactéria) são isoladas e cultivadas em meio de cultura apropriado, produzindo uma nova planta,*
- *6- A nova planta expressa o gene da outra espécie, produzindo a característica escolhida (resistência a doenças ou produção de alguma substância específica),*
- *7- Todas as células da nova planta são transgênicas, o que significa que a planta toda passa a ter a nova característica.*

Células Tronco

Células-tronco são células mestras que têm a capacidade de se transformar em outros tipos de células, incluindo as do cérebro, coração, ossos, músculos e pele.

Células-tronco embrionárias são aquelas encontradas em embriões. Essas células têm a capacidade de se transformar em praticamente qualquer célula do corpo. São chamadas pluripotentes. É essa capacidade que permite que um embrião se transforme em um corpo totalmente formado. Cerca de cinco dias após a fertilização, o embrião humano se torna um blastocisto-

uma esfera com aproximadamente 100 células. As encontradas em sua camada externa vão formar a placenta e outros órgãos necessários ao desenvolvimento fetal do útero. Já as existentes em seu interior formam quase todos os tecidos do corpo. Estas são as células-tronco de embriões usadas nas pesquisas. **Células-tronco adultas** O corpo possui outras células-tronco, que continuam a existir até mesmo na idade adulta. Por exemplo, o sistema hemopoiético (produtor das células sanguíneas), que fica na medula dos ossos, contém células-tronco adultas, que somente conseguem se diferenciar nessas células, e não em outras. No jargão científico, são células chamadas de multipotentes. Atualmente essas células já são utilizadas para repor a medula óssea destruída por quimioterapia ou radioterapia contra o câncer. A novidade é que o governo federal norte-americano, que financia 90% das pesquisas básicas e aplicadas realizadas nesta área, resolveu suspender esta semana a moratória que proibia a pesquisa com células-tronco retiradas de embriões abortados. O problema que havia antes com relação essas regras restritivas é que os grupos pró-vida americanos, que são contra o aborto e a reprodução assistida ("bebês de proveta"), por motivos religiosos ou éticos tinham conseguido influenciar o governo. A única fonte de células-tronco totipotentes e pluripotentes são embriões geralmente obtidos de tentativas de fertilização in-vitro, que existem literalmente às centenas de milhares, congelados em nitrogênio líquido, em clínicas e hospitais que realizam esse procedimento.

Como é evidente que milhões de vidas poderão ser salvas, e outras centenas de milhões de pacientes em todo o mundo poderão ser curados se a pesquisa com células-tronco puder avançar, a decisão do governo norte-americano é muito bem vinda. No entanto, os problemas éticos continuam, pois não podemos perder de vista os limites que impeçam o abuso (imaginem um, apenas: alguma empresa pagar pessoas para doar óvulos e esperma para produzir embriões, que serão em seguida destruídos para aproveitar as células-tronco). A Associação Americana para o Progresso da Ciência (www.aaas.org) recentemente emitiu um relatório sobre a pesquisa com células-tronco, em que recomenda que somente embriões doados pelos seus legítimos pais sejam usados em pesquisas. É uma saída, mas que vale apenas para os EUA. Limitações éticas rigorosas como essa não costumam ser seguidas por empresas, e muito menos por outros países.

Os cientistas geralmente obtêm essas células de embriões descartados em clínicas de fertilidade. Os embriões criados pelo espermatozóide e óvulo de um casal -- e que não são implantados no útero nem destruídos pela clínica -- podem servir como fontes de células-tronco. As qualidades de transformação das células-tronco podem representar tratamentos para muitas doenças que afetam milhões de pessoas no mundo. Por exemplo, uma injeção de células-tronco no cérebro de um portador de mal de Parkinson pode regenerar as funções dos neurônios do paciente e levar à cura. Outras terapias podem incluir diabetes, mal de Alzheimer, derrames, enfartes, doenças sanguíneas ou na espinha e câncer. Para algumas pessoas, como grupos religiosos e antiaborto, a destruição de um embrião é o mesmo que matar um ser humano.

Projeto Genoma Humano - PGH

O Projeto Genoma Humano é um empreendimento internacional, iniciado formalmente em 1990 e projetado para durar 15 anos, com os seguintes objetivos:

- **Identificar e fazer o mapeamento dos cerca de 80 mil genes que se calculava existirem no DNA das células do corpo humano;**
- **Determinar as seqüências dos 3 bilhões de bases químicas que compõem o DNA humano;**
- **Armazenar essa informação em bancos de dados, desenvolver ferramentas eficientes para analisar esses dados e torná-los acessíveis para novas pesquisas biológicas.**

Como parte deste empreendimento, paralelamente estão sendo desenvolvidos estudos com outros organismos selecionados, principalmente microorganismos, visando desenvolver tecnologia e também como auxílio ao trabalho de interpretar a complexa função genética humana. Como existe uma ordem subjacente a toda a diversidade da vida e como todos os organismos se relacionam através de semelhanças em suas seqüências de DNA, o conhecimento adquirido a partir de genomas não-humanos freqüentemente leva a novas descobertas na biologia humana. O PGH tem como um objetivo principal construir uma série de diagramas descritivos de cada cromossomo humano, com resoluções cada vez mais apuradas. Para isso, é necessário: dividir os cromossomos em fragmentos menores que possam ser propagados e caracterizados; e depois ordenar estes fragmentos, de forma a corresponderem a suas respectivas posições nos cromossomos (**mapeamento**). Depois de completo o mapeamento, o passo seguinte é determinar a **seqüência das bases** de cada um dos fragmentos de DNA já ordenados. O objetivo é descobrir todos os genes na seqüência do DNA e desenvolver meios de usar esta informação para estudo da biologia e da medicina. Um mapa genômico descreve a ordem dos genes ou de outros marcadores e o espaçamento entre eles, em cada cromossomo. Existem mapas de baixa resolução, como os mapas de associações genéticas, que indicam as posições relativas dos marcadores de DNA (genes e outras seqüências identificáveis de DNA) através de seus padrões de hereditariedade; e existem os mapas

físicos, que descrevem as características químicas da própria molécula de DNA. Um nível maior de resolução é obtido associando-se os genes a cromossomos específicos.

O projeto Genoma Humano começou como uma iniciativa do setor público, tendo a liderança de James Watson, na época chefe dos Institutos Nacionais de Saúde dos EUA (NIH). Numerosas escolas, universidades e laboratórios participam do projeto, usando recursos do NIH e Departamento de Energia norte-americano. Só este órgão financia cerca de 200 investigadores separados nos EUA. No dia 26 de junho de 2000 a **Celera** anunciou que havia seqüenciado 100% do genoma humano. Logo após a Celera já fez o pedido da patente de 6500 genes, mesmo tendo usado informações do Projeto Genoma Humano .

O grande problema da patente não é esse, e sim que se cada empresa tiver o direito a um gene ou genoma de alguma espécie, se outra empresa vier a desenvolver um medicamento que envolva o genoma da outra empresa, terá que pagar uma fortuna a ela para fabricar o remédio inviabilizando sua produção.

Até agora foram descobertos o genoma de mais de 33 espécies mostrando as nossas **semelhanças** moleculares resultantes da evolução. Tudo isso gera uma grande polêmica discutida na Bioética. Como serão as regras desse jogo? Quando os cientistas descobrirem a função de cada gene nos cromossomos essa questão da Bioética ficará ainda mais complicada. A predisposição para determinada doença poderá levar à uma discriminação.

Um exemplo disso aconteceu nos E.U.A. com Terri Seargent, de 43 anos, que foi despedida de um emprego, como gerente de escritório , após o resultado positivo dos exames que detectaram uma **doença genética** que matou seu irmão. Nos últimos dias estamos acompanhando as decisões do uso de exames genéticos pelos seguros de saúde na Inglaterra.

Podemos concluir, que **essa descoberta** irá revolucionar o mundo. E nós, no Brasil, nos igualamos aos laboratórios de primeiro mundo ao mapearmos o **genoma da bactéria Xylella**, causadora do amarelinho desenvolvendo tecnologia própria e abrindo caminho para o genoma câncer, **genoma da cana-de-açúcar** e outros.

Propriedade:

Colabora para o mau clima entre os pesquisadores a discussão a respeito de quem deve ficar com os direitos de uso dos pedaços do mapa genético que vão sendo decodificados todos os dias. A verdade é que os proprietários desses códigos genéticos têm para acumular fortunas fabulosas com seu uso industrial. A pergunta que muita gente faz é a seguinte: a utilização comercial seria uma forma de ampliar a eficiência da medicina ou uma maneira de lucrar com um bem que pertence a toda raça humana? Os conhecimentos trazidos pela decodificação do código genético também levantam algumas questões de ética médica. Por exemplo, se exames feitos ainda no útero da mãe mostrarem que uma criança sofre de uma doença genética que lhe vai matar em sua infância, quem decide se ela deve ou não ser abortada?

PROTEOMA

Proteoma é o conjunto de todas as proteínas que intervêm nos processos biológicos de uma espécie. E o objetivo agora, depois de se conhecer o genoma humano completo, assim como o de outros organismos também, é determinar a composição, estrutura, e funções de todas as proteínas do corpo para saber como elas interagem entre si. Empresas e laboratórios públicos e privados já estão na corrida para entender o proteoma, embora este seja sem dúvida muito mais extenso e complicado que o genoma. Enquanto o DNA possui somente quatro bases nitrogenadas, as proteínas estão compostas de aminoácidos, dos quais existem 20 tipos diferentes. Além do mais, muitos genes podem ser editados de formas diferentes para produzir proteínas diferentes. Por outro lado, o DNA está localizado no núcleo de qualquer célula, o que facilita a sua obtenção e purificação, já muitas proteínas só estão presentes em alguns tipos de células, e somente em certas fases de seu desenvolvimento.

Por último, não basta enumerar a seqüência de aminoácidos que forma a proteína, porque tão importante quanto a seqüência é a estrutura tridimensional que ela possui, indo interferir decisivamente no papel que ela realiza. **PROCEDIMENTO PARA SE ENTENDER O PROTEOMA**- Dado que as proteínas se fabricam a partir da informação contida no DNA, uma vez conhecido o gene fica fácil deduzir a seqüência de aminoácidos. É necessário determinar sua estrutura através da purificação da proteína e submetê-la a cristalografia de raio x ou ressonância magnética nuclear. Se utilizada a primeira técnica, exige-se que a purificação seja muito eficiente e que a proteína possa se cristalizar, mas oferece alguns dados duvidosos, já que bastam alguns dias para determinar sua estrutura tridimensional. Já a ressonância magnética nuclear é eficaz com proteínas de pequeno tamanho, ficando

comprometido o processo a partir de 200 aminoácidos por proteína. Porém, tem a vantagem de que não exige a cristalização da amostra. Atualmente, já se tem umas 2.500 proteínas, de diferentes organismos e de estrutura inicial conhecida, diz Alfonso Valencia, pesquisador do Conselho Nacional de Biotecnologia do CSIC.

