

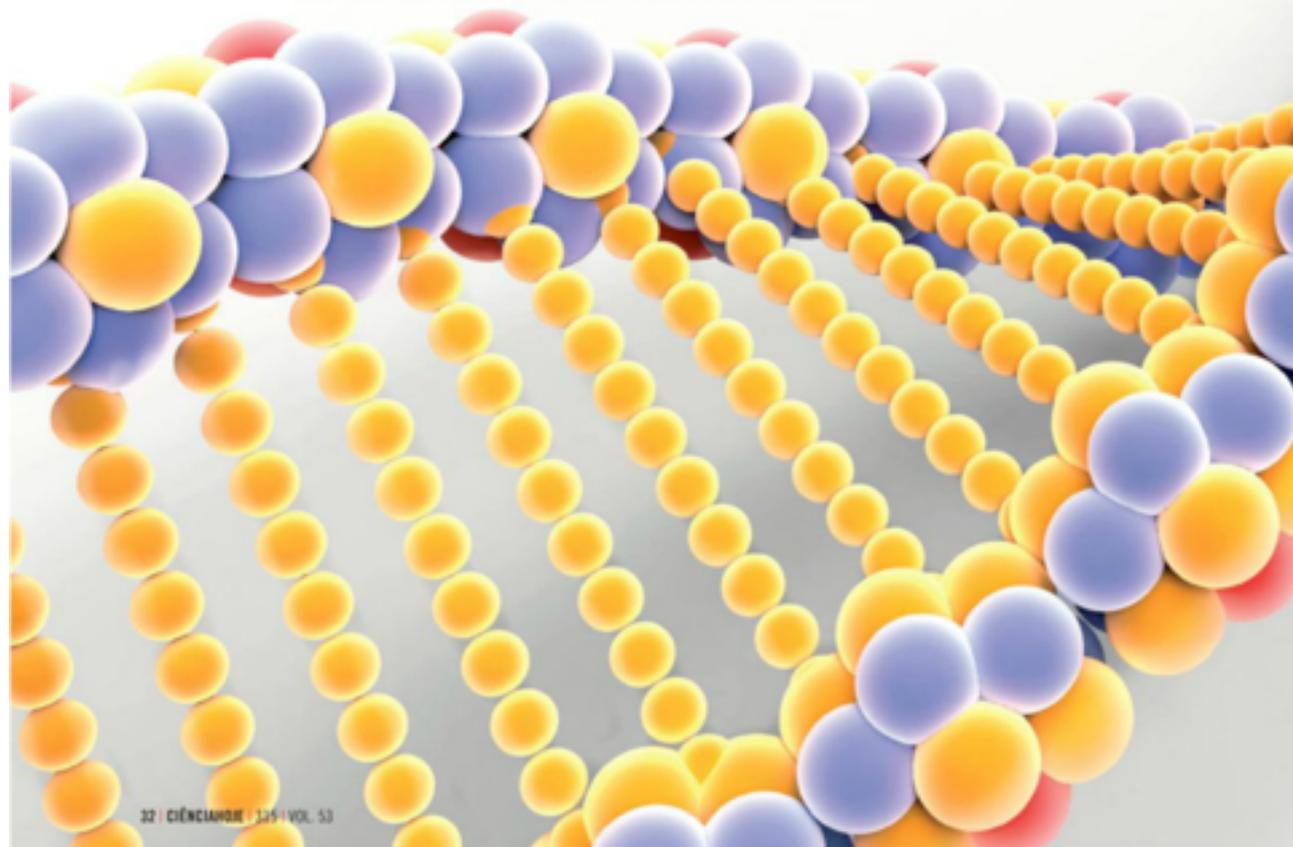
BIOLOGIA

Os seres vivos podem ser 'reprogramados', para adquirir capacidades que não têm na natureza? A resposta é: sim! A reprogramação de organismos, com vistas a aplicações biotecnológicas e biomédicas, é o objetivo da biologia sintética, uma nova área da ciência. Para conseguir isso, biólogos, físicos, químicos, engenheiros e muitos outros profissionais vêm atuando em conjunto e já começam a tornar realidade alguns cenários antes restritos à ficção científica. O engajamento de jovens cientistas e os avanços nas técnicas biomoleculares e genéticas, associados à conscientização quanto ao uso responsável dessas ferramentas, permitem acreditar que a biologia sintética ganhará destaque e trará melhorias para a qualidade da vida humana.

Rafael Silva Rocha

Tie Koide

*Departamento de Bioquímica e Imunologia,
Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo*



SINTÉTICA



O DESAFIO DA REPROGRAMAÇÃO DE ORGANISMOS VIVOS

Um grande vazamento em uma plataforma de produção de petróleo no oceano é detectado e controlado com a ajuda de 'dispositivos' capazes de degradar o composto rapidamente, evitando que se espalhe. Doenças graves, como o câncer e outras, são tratadas por 'máquinas' microscópicas, que identificam e atacam as células doentes de um paciente. Outros minúsculos 'aparelhos' atuam como fontes energéticas renováveis, não poluentes e autossustentáveis.

Os 'dispositivos' e 'máquinas' listados acima não têm componentes eletrônicos, como computadores e celulares: na verdade, todos são micro-organismos vivos, reprogramados para realizar essas tarefas complexas de forma controlada e precisa. Parece ficção científica, mas não é. Esse panorama ainda não faz parte do cotidiano, mas já está sendo desenhado nos laboratórios de biologia sintética, área de pesquisa que trabalha para trazer essas aplicações para o dia a dia.

>>>

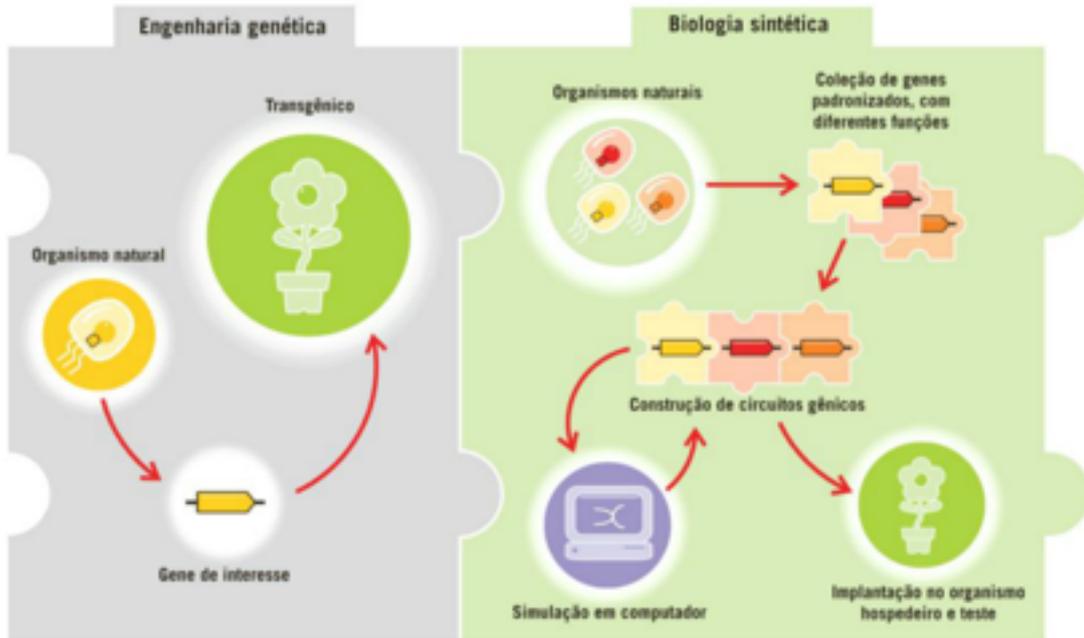
Esse novo campo de estudos pode ser visto como um sucessor da engenharia genética, com sofisticações possibilitadas pela biologia moderna: precisão, robustez, quantificações, simulações no computador...

As duas áreas são diferentes. Na engenharia genética, o principal objetivo é alterar organismos inserindo em seu DNA genes que lhes dão novas características (soja, milho, tomate e outros vegetais resistentes a determinadas pragas que atacam as lavouras ou com enriquecimentos nutricionais, por exemplo). De início, é preciso identificar o gene de interesse em organismos naturais, como o gene de resistência a um herbicida presente em uma bactéria. O gene é então inserido em outro organismo, como um 'transplante molecular', o que resulta em um ser transgênico. Os produtos da engenharia genética já são reais há anos, seja em plantas transgênicas cultivadas e consumidas no mundo todo ou na produção de medicamentos (insulina e outros).

Figura 1. Diferenças entre engenharia genética e biologia sintética. Na primeira, o gene de interesse é isolado de um organismo natural e inserido em novo hospedeiro, conferindo a este a característica desejada. Na biologia sintética, um conjunto de genes é isolado e padronizado para adquirir um formato que permita sua interconexão. Os genes são então usados para construir circuitos gênicos que podem ser avaliados em simulações computacionais, e os circuitos resultantes são inseridos no organismo hospedeiro para gerar as aplicações de interesse

Na biologia sintética, os passos intermediários entre o isolamento dos genes de interesse e a geração do produto final mudam totalmente. Em primeiro lugar, a grande complexidade dos sistemas construídos nessa nova área requer uma ampla coleção de genes com diferentes funções. Além disso, estes precisam ser conectados uns aos outros, em um processo denominado 'padronização' – é como converter os genes em peças encaixáveis, semelhantes às de um quebra-cabeça ou brinquedo de montar. Após a padronização, as peças selecionadas são usadas para construir circuitos gênicos, que funcionam como circuitos eletrônicos. Uma vez implantados nos organismos hospedeiros, esses circuitos permitem a realização das tarefas específicas desejadas pelos pesquisadores.

Antes da introdução do circuito de genes no hospedeiro final, são elaborados modelos matemáticos que permitem simular seu comportamento em computadores. Isso possibilita revisar o projeto de engenharia e fazer modificações que melhorem o desempenho. Após confirmar, em novas simulações, que o sistema funciona como desejado, ele é introduzido nos hospedeiros adequados, que podem ser bactérias, plantas ou até células de mamíferos. Os ciclos de padronização-simulação-validação compõem a grande inovação que a biologia sintética proporciona para a engenharia de sistemas biológicos e envolvem a colaboração entre profissionais de diferentes campos, como biologia, agronomia, medicina, física, matemática e química.



As possibilidades dessa engenharia de sistemas biológicos são tão amplas que a imaginação parece ser o limite para o que é possível realizar. Os exemplos citados no início deste artigo, por exemplo, parecem exercícios de futurologia, mas são resultados reais. Pesquisadores da Universidade da Califórnia, em Berkeley (Estados Unidos), desenvolveram um circuito gênico que, implantado na bactéria *Escherichia coli*, permite que esta reconheça e invada células cancerígenas, atuando como um sistema que direciona a liberação de drogas em tumores. Em outro trabalho, na Universidade de Emory (Estados Unidos), foi desenvolvida uma bactéria capaz de 'nadar' em direção a um poluente ambiental e liberar enzimas que degradam esse composto – gerando, portanto, um processo de biorremediação.

Outros exemplos têm aparecido em publicações científicas, com frequência cada vez maior. A maior parte das aplicações obtidas ainda não chegou ao nosso cotidiano, mas os estudos comprovam que esses cenários são possíveis. Um produto da biologia sintética que já começou a ser produzido é um medicamento destinado a combater a malária. A droga artemisina, antes extraída de plantas, está sendo obtida com o uso de circuitos construídos por engenharia gênica: um precursor da substância é produzido por uma levedura reprogramada e transformado em artemisina por outros processos. O processo torna o medicamento mais barato e permite um fornecimento mais estável, o que deverá ajudar no controle da doença.

A velocidade com que vêm surgindo novos resultados das pesquisas em biologia sintética indica que esse novo campo, em poucos anos, poderá gerar muitos outros produtos, com diferentes aplicações, trazendo efetivos benefícios à sociedade.

Regulação gênica Na história da humanidade, os grandes desenvolvimentos tecnológicos foram em geral precedidos por um importante avanço no conhecimento científico – como ocorreu com a física no início do século 20, que permitiu, entre muitas outras coisas, o surgimento de computadores cada vez mais sofisticados. Acredita-se que o século 21 será marcado pelos avanços na biologia.

Nas últimas décadas, o aperfeiçoamento das técnicas de biologia molecular vem permitindo estudar e entender em detalhe os diferentes processos associados com o controle dos circuitos gênicos nas células. Afinal, antes de conseguir reprogramar organismos vivos, é preciso decifrar como esses programas biológicos atuam em resposta a diferentes estímulos. Precisamos saber qual a função de cada peça, quais os encaixes possíveis e como essas conexões se comportam na natureza.

Um exemplo claro da importância de entender o controle desses programas genéticos está no fato de que to-

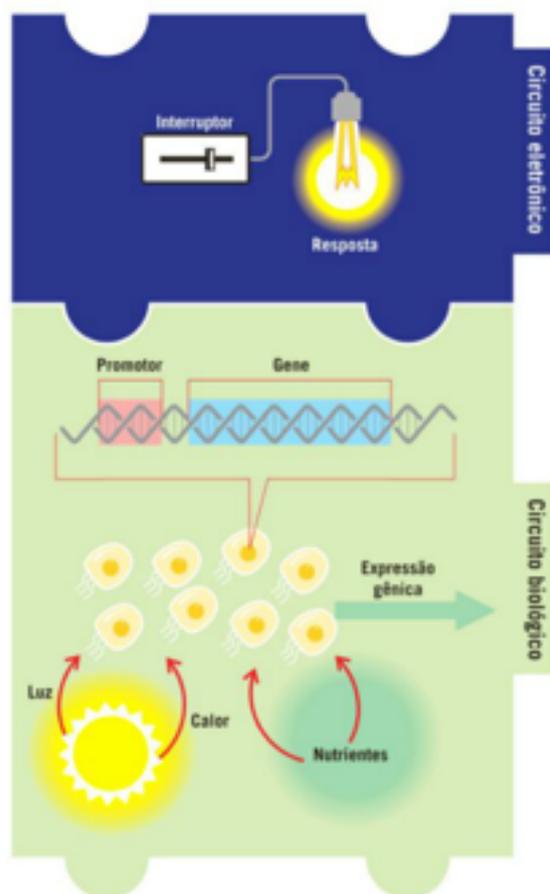
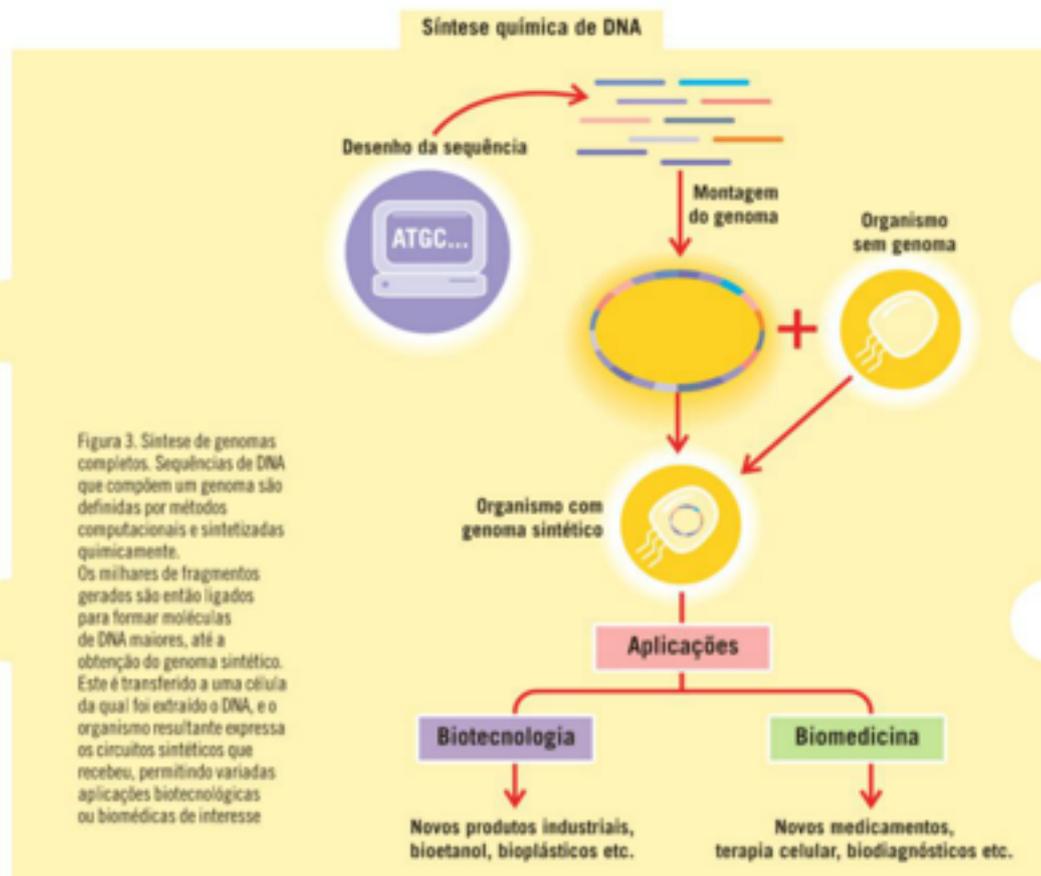


Figura 2. Controle da expressão gênica. Nos seres vivos, a percepção de estímulos ambientais controla a expressão de seus genes.

Nos circuitos biológicos, os genes (em azul) estão contidos no genoma e são formados por porções definidas do DNA, e a expressão de cada gene é controlada por uma região promotora, que reage aos sinais ambientais e determina se ele se expressará ou não. O processo é semelhante a um circuito eletrônico onde um interruptor controla a função de um dispositivo – por exemplo, uma lâmpada

das as células de um indivíduo carregam o mesmo conjunto de informações genéticas (o mesmo genoma), embora existam diferentes tipos de células, com funções especializadas (células dos músculos, do cérebro, do sangue, da pele e tantas outras). Os genes contêm as informações necessárias para essa especialização, mas devem ser acionados no lugar certo e na hora certa. Para isso, as células precisam ter um controle fino de quando cada gene está ligado ou desligado – ou seja, têm que realizar a regulação da expressão gênica.

Alguns genes atuam de modo contínuo nas células, enquanto outros são ligados apenas em resposta a sinais



específicos – por exemplo, mudanças de luminosidade, de temperatura e de disponibilidade de nutrientes, entre outras. Assim, o genoma de um organismo, composto por longas cadeias de DNA, contém não apenas os genes, mas também regiões que controlam a expressão desses genes. Estas são chamadas de regiões promotoras. Elas funcionam como um tipo de unidade de processamento, que analisa a presença ou ausência dos sinais que controlam a expressão gênica e, como resultado, ativam ou não os genes.

Fazendo uma comparação com um circuito eletrônico, uma região promotora equivale a um painel de controle conectado a um dispositivo como, por exemplo, uma lâmpada, e com diversos interruptores. Cada interruptor é ligado quando o estímulo adequado está presente e, dependendo da combinação de interruptores ligados ou desligados, a lâmpada é acesa ou permanece desligada.

Nos circuitos biológicos, o processo de ligar/desligar os 'interruptores' presentes nas regiões promotoras do genoma é extremamente sofisticado, e entender esse fenômeno nas diferentes células é um dos objetivos da

biologia sistêmica (ou biologia de sistemas). Esta busca compreender o funcionamento dos sistemas biológicos de maneira global, ou seja, tentando integrar todos os circuitos gênicos de um organismo, usando modernos métodos experimentais e computacionais.

Esse tipo de abordagem não só permite decifrar as estratégias adotadas pelos organismos em resposta a diferentes estímulos, mas também gera o conhecimento necessário para o desenho de novos circuitos gênicos sintéticos para aplicações biotecnológicas e biomédicas – andando de mãos dadas com a biologia sintética. No Laboratório de Biologia Sistêmica de Microorganismos da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (USP), por exemplo, estudamos como atuam os circuitos gênicos do micro-organismo *Halobacterium salinarum*.

Queremos entender como esse organismo, que consegue viver em locais onde a concentração de sal é até 10 vezes maior que a da água do mar, detecta e responde aos sinais ambientais. Para decifrar a rede de regulação gênica desse organismo, empregamos, de modo integrado, várias técnicas de biologia molecular de

última geração, além de técnicas computacionais. Essas ferramentas permitem mapear as 'estradas moleculares' que existem nesse micro-organismo peculiar e descobrir como elas se conectam e controlam o tráfego em diferentes contextos. Conhecendo os caminhos, é possível achar rotas alternativas, aproveitar alguns atalhos e assim, tornar possível inserir novas vias moleculares complexas, com controles bem estruturados – enfim, construir circuitos com finalidades biotecnológicas.

Criatividade responsável Nas células, as informações genéticas são codificadas por meio da sequência das chamadas bases nitrogenadas: adenina (A), timina (T), citosina (C) e guanina (G), as unidades básicas do DNA. O genoma de um organismo é o conjunto completo dessas sequências de A, T, C e G, contendo os genes e as regiões controladoras. O genoma da bactéria *E. coli*, por exemplo, tem cerca de 4,6 milhões de pares de bases, enquanto no genoma humano há mais de 3 bilhões. Para reprogramar organismos, os genes e as regiões promotoras precisam ser isolados e remontados.

Uma das principais limitações da biologia sintética, hoje, é o número muito baixo de regiões promotoras e genes que podem ser conectados de modo eficiente: ao redor de uma dezena. Isso dificulta obter algumas das aplicações almeçadas, que requerem circuitos com dezenas ou mesmo centenas de elementos. No entanto, essa limitação na capacidade de 'montagem' dos circuitos pode estar com os dias contados.

Metodologias desenvolvidas em 2010 por pesquisadores do Instituto Craig Venter, nos Estados Unidos, permitem sintetizar genomas completos em tubos de ensaio e, depois, introduzi-los em células hospedeiras que tiveram o genoma original removido. Esse 'transplante' de genoma representa o caso mais extremo de reprogramação celular, já que a célula sintética resultante passa a expressar a nova coleção de genes recebida – o genoma artificial.

Construir sequências genéticas com esse nível de complexidade é trabalhoso. Em primeiro lugar, as sequências de interesse são planejadas no computador. Feito o desenho do novo genoma, inicia-se a síntese química, ou seja, a ligação das bases (A, C, T e G) na ordem específica para formar a sequência desejada. Essa síntese só produz fragmentos curtos de DNA, que devem então ser unidos para compor sequências cada vez maiores, até formar o genoma completo, que será transplantado para a célula hospedeira. Esse novo processo de síntese completa de genomas elimina as limitações dos métodos atuais e terá enorme efeito no desenvolvimento da biologia sintética.

Reprogramar organismos vivos não é fácil. Para que as promessas da biologia sintética se tornem reais, é

necessário o engajamento da nova geração de cientistas. Como forma de incentivar jovens a conhecer as técnicas existentes e usá-las de modo responsável, ocorre anualmente a Competição Internacional de Máquinas Modificadas Geneticamente (iGEM, na sigla em inglês). Nesse evento, estudantes de todo o mundo, usando peças padronizadas de DNA ou criando novas peças, apresentam projetos de sistemas com diferentes propósitos que funcionem em células vivas.

Lâmpadas bioluminescentes, sistemas que otimizam a produção de etanol, organismos que detectam agentes patogênicos, tornam plantas mais resistentes e ajudam no tratamento de doenças são exemplos de projetos levados à competição. Organizados em equipes multidisciplinares e supervisionados por pesquisadores de universidades, esses jovens usam sua criatividade para imaginar e concretizar novas aplicações, pensando no impacto na sociedade e nas implicações éticas.

A competição vem crescendo, e agora é dividida em regionais e continentais. A participação do Brasil tem sido crescente: na iGEM latino-americana, em 2013, três grupos representaram o país. Todos os times, segundo as regras (disponíveis em <http://igem.org/>), devem ter uma página na Wikipedia, apresentando o projeto de modo simples e acessível ao público leigo. Para incentivar novas pesquisas nessa área e a participação na competição internacional, estudantes brasileiros criaram o Clube de Biologia Sintética (<http://synbio-brasil.org/scienceclub/>). O interesse em torno do tema permite acreditar que, em pouco tempo, a biologia sintética ajudará, de maneira responsável, a encontrar soluções para problemas críticos ligados ao meio ambiente e à vida humana. ■

Sugestões para leitura

KOIDE, T.; LEE PANG, W. e BALIGA, N. S. 'The role of predictive modeling in rationally re-engineering biological systems', em *Nature Reviews Microbiology*, v. 7(4), p. 297, 2009.

CHURCH, G. M. e REGIS, E. *Regenesis: How Synthetic Biology will reinvent nature and ourselves*. New York, Basic Books 2012.

NA INTERNET

Laboratório de Biologia Sintética de Micro-organismos (LaBioSM):

<http://labiosmi.ferp.usp.br/>

Synbio Brasil: <http://synbio-brasil.org/>

Adventures in Synthetic Biology:

http://publications.nigms.nih.gov/findings/mar07/entry_files/textmostly/slide8.html