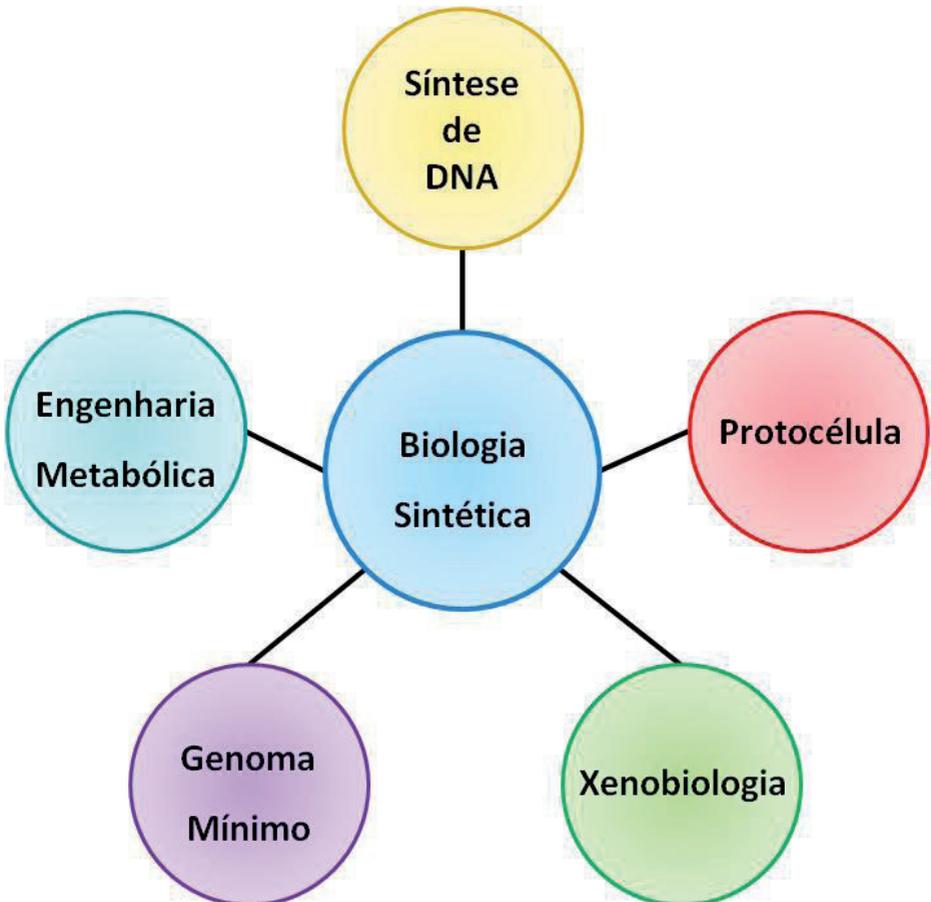


Biologia Sintética



***Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Milho e Sorgo
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento***

Documentos 196

Biologia Sintética

Maria José Vilaça de Vasconcelos
José Edson Fontes Figueiredo

Embrapa Milho e Sorgo
Sete Lagoas, MG
2015

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Milho e Sorgo

Rod. MG 424 Km 45

Caixa Postal 151

CEP 35701-970 Sete Lagoas, MG

Fone: (31) 3027-1100

Fax: (31) 3027-1188

www.embrapa.br/fale-conosco

Comitê de Publicações da Unidade

Presidente: Sidney Netto Parentoni

Secretário-Executivo: Elena Charlotte Landau

Membros: Antonio Claudio da Silva Barros, Cynthia Maria Borges

Damasceno, Maria Lúcia Ferreira Simeone, Monica Matoso

Campanha, Roberto dos Santos Trindade, Rosângela Lacerda de

Castro

Revisão de texto: Antonio Claudio da Silva Barros

Normalização bibliográfica: Rosângela Lacerda de Castro

Tratamento de ilustrações: Tânia Mara Assunção Barbosa

Editoração eletrônica: Tânia Mara Assunção Barbosa

Foto(s) da capa: José Edson Fontes Figueiredo

1ª edição

Versão Eletrônica (2015)

Todos os direitos reservados

A reprodução não-autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei no 9.610).

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Embrapa Milho e Sorgo

Vasconcelos, Maria José Vilaça de.

Biologia sintética / Maria José Vilaça de Vasconcelos, José Edson Fontes Figueiredo. -- Sete Lagoas : Embrapa Milho e Sorgo, 2015.

35 p. : il. -- (Documentos / Embrapa Milho e Sorgo, ISSN 1518-4277; 196).

1. Biologia. 2. Genética. 3. Gene. I. Vasconcelos, Maria José Vilaça de. II. Figueiredo, José Edson Fontes. III. Título. IV. Série.

CDD 576.5 (21. ed.)

© Embrapa 2015

Autores

Maria José Vilaça de Vasconcelos

Farmacêutica/Bioquímica, PhD e Pesquisadora
Embrapa Milho e Sorgo, Rod. MG 424 km 45,
Cx. Postal 151, CEP 35701-970 Sete Lagoas, MG,
mariajose.vasconcelos@embrapa.br

José Edson Fontes Figueiredo

Bioquímico, PhD e Pesquisador Embrapa Milho
e Sorgo, Rod. MG 424 km 45, Cx. Postal 151, CEP
35701-970 Sete Lagoas, MG,
jose.edson@embrapa.br

Apresentação

A Biologia Sintética, em franca expansão nos dias de hoje, consiste no uso de bioinformática e técnicas de engenharia genética e bioquímica com o objetivo de desenhar circuitos biológicos modulares, por meio do redirecionamento ou construção de novas rotas metabólicas e a criação de organismos artificiais, visando maximizar o seu funcionamento. Não se trata de uma técnica específica, mas de um conceito que pode utilizar diferentes abordagens de edição genômica para alcançar a meta final. Esse documento tem como objetivo fornecer uma visão abrangente desse novo ramo da biologia, de modo a ampliar a nossa percepção sobre as possibilidades futuras que podem ser vislumbradas sobre o desenvolvimento e as aplicações dessa nova abordagem científica.

Antonio Alvaro Corsetti Purcino
Chefe-Geral
Embrapa Milho e Sorgo

Sumário

Introdução	6
Biologia Sintética	9
Expectativas sobre Biologia Sintética	11
Exemplos da Biologia Sintética	11
Circuitos Sintéticos e Aplicações Terapêuticas	11
Redução Genômica: Genomas Mínimos	13
Ampliação do Código Genético	14
Engenharia Metabólica	16
Protocélulas.....	17
Potenciais Usos da Biologia Sintética na Agricultura	17
Possíveis Riscos da Biologia Sintética	20
O Futuro da Biologia Sintética	21
Conclusões	21
Referências	22

Biologia Sintética

Maria José Vilaça de Vasconcelos¹

José Edson Fontes Figueiredo²

Introdução

O trabalho de Hutchison et al. (1999), que identificou o conjunto mínimo de genes essenciais para o funcionamento de *Mycoplasma genitalium*, é considerado por muitos cientistas como o marco inicial da Biologia Sintética. Esse ramo da ciência tem evoluído tão rapidamente nos últimos anos que não existe ainda uma definição amplamente aceita por todos (HAIMOVICH et al., 2015; HAYDEN, 2014). A Biologia Sintética tem por objetivos desenhar e construir novas rotas metabólicas e organismos artificiais, redesenhar sistemas naturais existentes para maximizar e direcionar o seu funcionamento, considerando objetivos bem definidos e a sua aplicação nas mais diferentes áreas (BALL, 2007; BENNER, 2008; BOUDRY; PIGLIUCCI, 2013; GIBSON et al., 2010; JUHAS, 2015; KEASLING, 2008; ZAKERI; CARR, 2015). Dessa maneira, o organismo redesenhado poderá produzir moléculas completamente novas, portanto não encontradas na natureza, visando interesses específicos. Ainda mais promissoras são as tentativas de produção de seres vivos completamente novos ou

máquinas biológicas sintéticas contendo apenas as informações indispensáveis para o seu funcionamento (BENNER; SISMOUR, 2005; HICKS; PRATHER, 2014; LEE et al., 2014; SARPESHKAR, 2015; SHEPPARD et al., 2014; ROQUET; LU, 2014). Esta perspectiva de engenharia pode ser aplicada em todos os níveis hierárquicos das estruturas biológicas (moléculas individuais, células inteiras, tecidos e organismos). Em essência, a Biologia Sintética permitirá a concepção de sistemas biológicos de forma racional e sistêmica, controlados com precisão e com finalidades práticas. A construção de sistemas biológicos simplificados maximizará a funcionalidade do organismo, acarretando baixo consumo energético.

Todos os organismos contêm um conjunto de informações que determinam com o que eles se parecem e o que eles fazem (GARDNER et al., 2000). Estas informações estão codificadas no DNA (genoma) dos organismos. Com o processo de domesticação de culturas, o homem tem selecionado o código genético das plantas e dos animais por meio de cruzamento e seleção de indivíduos com características desejáveis (GRIFFITHS et al., 2008). Com o advento da biotecnologia moderna e suas técnicas, os cientistas aprenderam a decifrar e manipular o código genético. Atualmente é possível obter a informação genética associada com características úteis de um organismo e adicioná-la em outro (BECSKEI; SERRANO, 2000). Isso constitui a base da engenharia genética, permitindo aos pesquisadores acelerar o processo de desenvolvimento de novas gerações de plantas, animais e microrganismos (CARRER et al., 2010). Avanços recentes têm permitido aos cientistas fazerem novas sequências de DNA sem a necessidade de um molde pré-existente (MATZAS et al., 2010; SCHWARTZ et al., 2012). Ao combinar esses avanços com os princípios

da engenharia genética, métodos de bioinformática e de laboratório, os cientistas projetam ou redesenham organismos para executarem funções inteiramente novas, como a produção de biocombustíveis ou secreção de precursores de drogas farmacêuticas (BALMER; MARTIN, 2008; BHUTKAR, 2005). Este princípio é considerado por muitos pesquisadores como sendo a essência da Biologia Sintética.

A Biologia Sintética se encontra na interface de várias áreas, exigindo a integração de muitas disciplinas, como a engenharia genética, metabólica e genômica; biologia evolutiva, estrutural e química; biologia de sistemas, biofísica e bioinformática, entre outras (SARPESHKAR, 2015; SERRANO; VANCOMPENOLLE, 2005). Em princípio, as aplicações da Biologia Sintética têm se mostrado mais eficiente em três áreas: (i) a construção de biomoléculas artificiais e biomateriais; (ii) a síntese de ambos os produtos de química fina e granel (incluindo os biocombustíveis); e (iii) a construção de sistemas biológicos inteligentes que respondem ao ambiente circundante (GUAZZARONI et al., 2015; SILVA-ROCHA; TIE, 2014). Diferente do que muitos acreditam, os conceitos de Engenharia Genética e Biologia Sintética são distintos (Figura 1). Na Engenharia Genética, um gene é isolado de um organismo natural e inserido em um novo hospedeiro, conferindo-lhe a característica desejada. Na Biologia Sintética, vários genes são selecionados, modificados ou criados para construir circuitos gênicos, que serão testados e inseridos no hospedeiro para desempenhar as funções de interesse, ou seja, interferir precisamente nas funções celulares (SILVA-ROCHA; TIE, 2014).

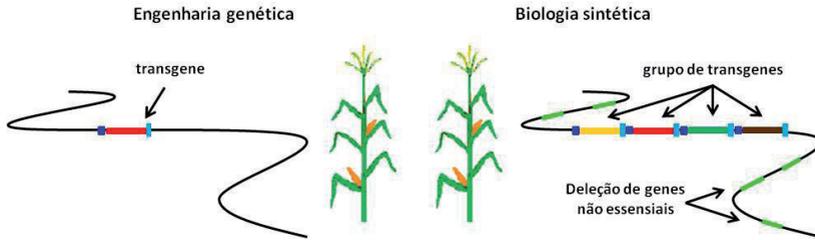


Figura 1. Diferenças entre a Engenharia Genética e a Biologia Sintética. Na Engenharia Genética, geralmente apenas um gene é introduzido na planta, enquanto na Biologia Sintética um cassete contendo diferentes genes é transferido para a planta. Os genes nessas construções podem conter informações completamente novas, ausentes na espécie de interesse, não existentes na natureza, ou sequências gênicas modificadas. Para a construção de genomas mínimos, os genes não essenciais são identificados e excluídos. Dessa forma, ocorre o redesenho do organismo visando a criação de máquinas genéticas que possuem novas propriedades e funcionamento maximizado (elaboração original).

Biologia Sintética

A emergente área da Biologia Sintética, não diferente de outras tecnologias descritas no passado, gera uma extensa gama de questões de natureza ética e política sobre as quais há pontos de vista divergentes e uma extensa bibliografia. Entretanto, enquanto se discute, há um acelerado avanço científico e tecnológico, alguns deles notáveis, que foram realizados pela equipe de cientistas do *J. Craig Venter Institute*, localizado em Rockville, Maryland, Estados Unidos. Este grupo conseguiu sintetizar o genoma da bactéria *Mycoplasma mycoides* a partir da sequência do seu genoma arquivado num computador, e introduzi-lo na bactéria *Mycoplasma capricolum*, cujo DNA tinha sido previamente removido (GIBSON et al., 2008). A

nova bactéria sintética, a qual se deu o nome de *Mycoplasma laboratorium*, foi capaz de se reproduzir milhares de milhões de vezes, controlada pelo novo genoma (GIBSON et al., 2010).

Outro feito importante realizado por um grupo de pesquisadores do Instituto de Sistemas Genéticos do Centro Médico Langone, da Universidade de Nova York, liderado pelo Dr. Boeke, conseguiu produzir um cromossomo artificial de levedura. Antes os cientistas haviam conseguido apenas fabricar cromossomos de estrutura muito mais simples, como bactérias e vírus. Desta vez, foram necessários sete anos de trabalho de uma equipe internacional de cientistas para construir esse genoma e reunir 273.871 pares de bases de DNA de levedura (ANNALURU et al., 2014). O cromossomo da levedura sofreu milhares de modificações em sua sequência de DNA antes de ser integrado às células de *Sacharomices cerevisiae*. Esta levedura “engenheirada”, apesar de se comportar de maneira normal, possui novas propriedades que a levedura natural não tinha. O cromossomo funcional criado foi denominado *SynIII* e possui 272.871 pb, em contraposição ao cromossomo III, original de *S. cerevisiae* que possui 316.617 pb. As modificações realizadas em *synIII* incluem substituições de códons de terminação TAG/AT, eliminação de regiões subteloméricas, íntrons, tRNAs, transposons e silenciamento do loci *mating type*, bem como a inserção de sítios loxPsym para permitir a ocorrência de recombinação homóloga no genoma (ANNALURU et al., 2014).

Após o sucesso desta pesquisa será possível desenvolver variedades sintéticas da levedura capazes de fabricar medicamentos raros, ou certas vacinas, entre elas a utilizada contra a hepatite B. As leveduras artificiais também poderão

ser usadas para o desenvolvimento de biocombustíveis mais eficientes. Esses estudos realizados em leveduras representaram os maiores avanços científicos para possibilitar a construção de genomas sintéticos completos de organismos eucariotos.

Expectativas sobre Biologia Sintética

Uma avaliação recente da percepção pública sobre a Biologia Sintética revelou uma fraca sensibilização para este assunto. Porém, quando informado sobre a Biologia Sintética, o público mostrou grande interesse pela perspectiva de vir a ser possível desenhar microrganismos para produzir biocombustíveis e fármacos. Dito isto, manifestaram também preocupação, por exemplo, sobre o lançamento deliberado na natureza de organismos artificiais com vista a combater a poluição ambiental. Assim, a sociedade passou a exigir a regulamentação pelos governantes sobre o uso da Biologia Sintética.

Exemplos da Biologia Sintética

Circuitos Sintéticos e Aplicações Terapêuticas

A atividade natural das células é controlada por circuitos de genes análogos aos circuitos eletrônicos. Assim, uma abordagem para fazer com que as células produzam novos produtos reside no redirecionamento ou criação de novos circuitos internos capazes de alterar o seu padrão de atividade. O fundamento dessa abordagem engloba o conceito de Relógio Molecular. Essa teoria postula que as substituições

nas sequências de certas proteínas ocorrem em uma taxa constante, portanto as proteínas seriam os cronômetros, porque o número de diferenças nucleotídicas entre duas espécies seria proporcional ao tempo de divergência evolutiva entre elas. O relógio molecular pode variar de gene para gene e é diferente para diferentes linhagens. Assim, diferentes proteínas evoluem em taxas diferentes, e alguns animais têm taxa de evolução diferente (CORREIA, 2009). Utilizando os componentes genéticos conhecidos que atuam como relógios moleculares, será possível inventar redes artificiais de genes. Estas redes, quando reunidas e introduzidas em sistemas naturais, poderão ser usadas no controle de como e quão frequentemente funcionam tais sistemas. Introduzida em células apropriadas, uma rede artificial pode ser utilizada para detectar e corrigir perturbações metabólicas. Circuitos gênicos sintéticos usando reguladores de transcrição de bactérias e vírus possibilitaram a descoberta de compostos antituberculose e estabeleceram uma nova linha de defesa contra *Mycobacterium tuberculosis* multirresistente a drogas (WEBER et al., 2008), e o uso da técnica de híbrido duplo reverso (*Reverse Two-hybrid System*) possibilitou a descoberta de peptídeos cíclicos compostos por cinco aminoácidos que impediam a interação entre a proteína Gag do vírus HIV e a proteína humana TSG101, consequentemente bloqueando o egresso de partículas virais das células (TAVASSOLI et al., 2008).

Em outra abordagem, moléculas sintéticas de RNAs pequenos foram usadas como sensores para diagnosticar doenças associadas a alterações moleculares em células (por exemplo, câncer) e ativar a via de apoptose ou morte celular, eliminando as células doentes (VENKATARAMAN et al., 2010; CULLER et al., 2010). Tais procedimentos podem oferecer novas perspectivas

de vida para os pacientes portadores de enfermidades ainda difíceis de serem curadas. No entanto, as estratégias baseadas em RNA sintético ainda precisam ser mais bem estudadas.

Redução Genômica: Genomas Mínimos

Uma importante abordagem da Biologia Sintética está relacionada com a definição do número mínimo de informação genética necessária para a sobrevivência de um organismo e sua recodificação para que desenvolvam novas funcionalidades. O objetivo final dessa abordagem consiste em minimizar o consumo de energia necessária para a sobrevivência das células e direcioná-las para a produção de moléculas de interesse para a indústria química e farmacêutica (FOLEY; SHULER, 2010; SILVA-ROCHA et al., 2013; VICKERS et al., 2010). Dessa forma, células com genoma sintético direcionarão o máximo de energia para a produção de moléculas de interesse e conseqüentemente apresentarão maiores rendimentos (XAVIER et al., 2014). A simplicidade de tais construções permite o estudo detalhado de características biológicas de interesse, além de responder aos questionamentos sobre quantos genes são necessários para se produzir uma célula (KOONIN, 2000). A maioria dessas investigações tem sido desenvolvida em bactérias em que os genes são progressivamente eliminados, revelando os genes que são essenciais à vida e os que não são (ANNALURU et al., 2015; XUE et al., 2015). Vários projetos de redução genômica em procariotos relevantes para a indústria já obtiveram êxito. As bactérias *Bacillus subtilis* e *Escherichia coli* K-12 são utilizadas com variados propósitos biotecnológicos e ambos os genomas estão bem caracterizados. Por isso, essas espécies bacterianas são usadas há mais de uma década para construção de fábricas celulares pela indústria (BUESCHER

et al., 2012; JUHAS, 2015; JUHAS et al., 2014; NICOLAS et al., 2012a, 2012b; TANAKA et al., 2013). Nos primeiros estudos, na linhagem MBG874 de *B. subtilis*, que teve 874 kb deletados (20% do genoma original), a produtividade de celulase extracelular e protease foi 1,7 e 2,5 vezes maior do que a célula selvagem, respectivamente (MORIMOTO et al., 2008). Da mesma forma, a linhagem MGF-01 de *E. coli* que foi obtida após várias deleções de fragmentos genômicos (aproximadamente 1 Mbp, ou 22% do genoma), apresentou maior capacidade de crescimento e altos níveis de produção de treonina (MIZOGUCHI et al., 2007, 2008).

Em um exemplo mais recente, Lieder et al. (2015) realizaram a redução do genoma da linhagem KT2440 de *Pseudomonas putida* visando a produção de um chassi para aplicações biotecnológicas. Os autores relataram que, em todas as condições testadas, a linhagem modificada foi capaz de crescer mais rápido, apresentou aumento de biomassa, alta viabilidade, estabilidade de plasmídios e um aumento de 40% na produção da proteína GFP (*green fluorescent protein*) quando comparada com a linhagem parental.

Ampliação do Código Genético

A expansão do código genético é uma modalidade da Biologia Sintética que visa aumentar o repertório de proteínas que podem ser utilizadas como ferramentas para pesquisa de novas funções. Essa ampliação do código genético está baseada na modificação artificial de um códon genético que não é utilizado pelo organismo, para que ele venha a codificar um aminoácido que não faz parte do repertório de 20 aminoácidos encontrados em proteínas naturais. Entre os vários exemplos dessa nova

tecnologia, um aminoácido incomum com um átomo pesado foi incorporado em uma proteína para facilitar os estudos de cristalografia por difração de raios X (XIE; SCHULTZ, 2005).

Nesta mesma linha, outro enfoque da Biologia Sintética consiste na expansão do número de bases nucleotídicas para aumentar a capacidade de codificação do DNA. Nessa modalidade, um par de bases não natural (UBP, *unnatural base pair*), ou nucleotídeo que não ocorre na natureza, é criado no laboratório. Isso representa um avanço significativo para a expansão do número de aminoácidos que podem ser codificados pelo DNA, aumentando o potencial dos organismos produzirem novas proteínas (KRISHNAKUMAR; LING, 2014). Em experimentos feitos com a bactéria *E. coli*, os pesquisadores confirmaram a produção de dois aminoácidos não naturais capazes de reagir entre si para formar uma ligação química diferente das ligações que mantêm unidas as proteínas naturais (NEUMANN et al., 2010).

Na Inglaterra, a equipe do Dr. Jason Chin, da Universidade de Cambridge, reprojeteu uma célula capaz de ler o código do DNA de quatro em quatro letras. Esse código genético paralelo eleva de 22 para 276 o número de aminoácidos que podem ser usados para formar novas proteínas, inexistentes nas células atuais. Isso permitirá a criação de formas de vida melhoradas, ou totalmente novas. Essa tecnologia é possível graças à criação do ribossomo ortogonal, que é capaz de ler as mensagens codificadas nos códons quádruplos. Com o ribossomo artificial e o ribossomo natural trabalhando paralelamente no interior da célula, os cientistas conseguiram produzir novos aminoácidos sem interferir com o funcionamento normal da célula (NEUMANN et al., 2010).

Contudo, a expansão do alfabeto genético de determinado organismo representa novos e imprevistos desafios: o nucleotídeo não natural precisa estar disponível no interior das células; polimerases endógenas precisam ser capazes de usar o trifosfato não natural para que a replicação ocorra com sucesso; e, finalmente, o UBP precisa ser estável na presença de mecanismos de reparo que mantêm a integridade do DNA celular (MALYSHEV et al., 2014).

Engenharia Metabólica

Outra aplicação da Biologia Sintética reside na criação de novas vias metabólicas de síntese para produzir compostos de interesse que os organismos vivos não produzem naturalmente. Um exemplo frequentemente relatado é o da utilização de leveduras modificadas ou da bactéria *Escherichia coli* para produzir ácido artemisiníco. A síntese química da artemisinina, droga utilizada em tratamento de malária e alguns tipos de câncer, é complexa, envolve inúmeras etapas, apresenta baixos rendimentos e elevados custos de produção (GELDRE et al., 1997). O isolamento a partir da planta *Artemisia annua* era a melhor forma para obtenção da droga (DELABAYS et al., 2001). Entretanto, a produção tradicional depende da colheita e extração do composto da planta, sendo sujeita à sazonalidade, flutuações de preço no mercado, o que interfere na quantidade de artemisinina produzida, comprometendo o tratamento dos pacientes. A solução para esse problema foi dada pela Biologia Sintética, pela modificação e pelo desvio da via metabólica da síntese de esteróis de leveduras, fazendo com que elas pudessem expressar enzimas da planta envolvidas nessa via, finalmente obtendo produção em larga escala da artemisinina ($>100\text{mg l}^{-1}$) (RO et al., 2006).

Protocélulas

Os mais dramáticos esforços dos cientistas trabalhando com Biologia Sintética concentram-se na produção de células capazes de se autoagregarem, autorregenerarem e se reproduzirem. Muitos obstáculos terão de ser ultrapassados antes que este objetivo seja atingido (CHEN et al., 2007).

Estudos recentes em *Drosophila* têm mostrado que circuitos sintéticos podem alterar o desenvolvimento e o ciclo de vida de organismos multicelulares de maneira controlada. Chen et al. (2007) sintetizaram um elemento genético chamado “Medea” (*Maternal-effect dominant embryonic arrest*), capaz de se multiplicar através de uma população (CHEN et al., 2007). Esse elemento expressa um microRNA (miRNA) materno que bloqueia a expressão de uma proteína essencial para o desenvolvimento embrionário. Esse elemento também expressa um “antídoto” para este miRNA tóxico, que consiste de uma segunda cópia do gene que possui uma deleção do sítio de ligação do miRNA. Fêmeas Medea positivas sempre expressam os miRNA maternos tóxicos. Dessa forma, Medea seleciona para a sua própria sobrevivência induzindo um efeito materno letal para todos os indivíduos da progênie que não herdarem o cromossomo, materno ou paterno, portador do elemento letal.

Potenciais Usos da Biologia Sintética na Agricultura

A Biologia Sintética objetiva aplicar os princípios de Engenharia Genética para redesenhar plantas para executarem novas funções com alto desempenho. Enquanto a Biologia Sintética apresentou rápida evolução em microrganismos, a engenharia de organismos multicelulares está apenas começando e tem

sido feita de acordo com o que se costuma designar “de cima para baixo”. Nessa abordagem, novos circuitos gênicos “engenheirados”, são criados visando a sua implantação em organismos de interesse que serão usados como “chassis” para a produção de metabólitos em escala industrial (SARRION-PERDIGONES et al., 2013). As diferentes áreas da Biologia Sintética de plantas, seus objetivos e aplicações podem ser resumidos como a seguir: a) síntese de DNA com o objetivo de criar novos genes ou genomas completos visando produzir novas proteínas não existentes na natureza; b) engenharia metabólica objetivando desenhar e implementar funções novas ou alteradas para obtenção de produtos específicos; c- genoma mínimo para redesenhar ou criar novos organismos contendo apenas genes essenciais para estudos e criação de organismos modelo com funções otimizadas; d) protocélula para criar modelos bioquímicos simplificados de células para produção de moléculas em grande escala, com economia de energia e livre de contaminações; e) xenobiologia, essa subárea objetiva gerar alterações no código genético por meio de alterações da composição química de bases do DNA e aminoácidos das proteínas, portanto criando sistemas biológicos artificiais exibindo funções novas não encontradas na natureza (FESENKO; EDWARDS, 2014).

O uso de tecnologias disponíveis na Biologia Sintética, além de representar um incremento à tecnologia dos transgênicos, possibilitará o desenho de novas vias metabólicas, criar novas características fisiológicas, modelar o controle do desenvolvimento de plantas, além de criar e redesenhar genomas (LIU; STEWART JR., 2015). A ideia é melhorar nossa habilidade de produzir novas culturas por meio de técnicas de engenharia biológica para produzir plantas, não apenas

para a alimentação, mas para fornecer novas matérias-primas renováveis para a indústria (FESENKO; EDWARDS, 2014).

O esforço conjunto de dois grupos de pesquisa, um deles envolvido nos sistemas de resposta a estresses bióticos e abióticos e o outro grupo que está reprogramando as redes de sinalizações celulares, pretende produzir plantas com novos mecanismos de defesa que não existem na natureza (FESENKO; EDWARDS, 2014).

Em 2014, foi reportado que a técnica de engenharia genômica utilizando nuclease sítio-específico produziu, com grande sucesso, plantas tolerantes a estresses bióticos e abióticos (KATHIRIA; EUDES, 2014).

Em São Francisco, Califórnia, a startup Muufri está trabalhando na produção de leite sintético, livre de secreções animais. Outro grupo intitulado “biohackers” está tentando criar o queijo vegano, e a companhia suíça Evolva está usando Biologia Sintética para produzir açafrão, baunilha e estévia. Outras companhias como a Solazyme estão “engenheirando” algas para produzirem manteiga, farinhas ricas em proteínas e proteína vegana (TERRA VIA, 2015).

O xilano é um tipo de hemicelulose, constituindo o segundo polissacarídeo mais abundante na biomassa vegetal, logo após a celulose. O xilano é abundante na madeira e nos resíduos agrícolas e agroindustriais, por isso esse polissacarídeo representa potencial para gerar energia na forma de biocombustível. Até recentemente a dificuldade de extrair o xilano da parede celular vegetal consistia o maior entrave para a sua utilização na indústria. Cientistas do Departamento

de Energia dos Estados Unidos identificaram o gene *XAX1* em arroz, que, ao ser suprimido, possibilitou a melhora substancial, tanto da extração de xileno como da liberação de açúcares (60%), necessários para a produção mais eficiente de biocombustível (CHINIQUY et al., 2012).

Possíveis Riscos da Biologia Sintética

A Biologia Sintética não é a única área relacionada com a biotecnologia em que se discutiu amplamente o que fazer diante dos potenciais riscos das novas tecnologias geradas. O desenvolvimento de organismos geneticamente modificados e a sua chegada ao mercado criou uma polêmica que perdura. Os desafios da busca de entendimento dessas novas tecnologias nos levam a um maior conhecimento sobre como os seres vivos funcionam e como a vida poderia ter surgido originalmente. Benefícios sociais que poderão ser derivados da genômica e aplicações da Biologia Sintética, como novos medicamentos, vacinas e biocombustíveis, têm sido utilizados como argumentos mitigadores dos temores da sociedade sobre os possíveis danos que essas novas tecnologias revolucionárias possam ter sobre os ecossistemas (BUYX; TAIT, 2011; KHALIL; COLLINS, 2010; LEE et al., 2013; ROBERTSON et al., 2011; SCHMIDT; GIERSCH, 2011). Por outro lado, questões éticas e filosóficas sobre a natureza da vida (BOLDT; MULLER, 2008) têm sido levantadas e debatidas (DEPLAZES, 2008).

Os possíveis riscos do desenvolvimento da Biologia Sintética podem ser classificados em dois tipos principais: biossegurança, no caso de consequências adversas resultantes dos produtos desenvolvidos a partir desta tecnologia, e

acidentes involuntários ou outros acontecimentos não previstos relacionados ao meio ambiente e à saúde humana e animal. Certamente um organismo completamente novo, autorreplicável, que escape do laboratório para o ambiente, pode representar sérios riscos para os ecossistemas, dependendo das propriedades e atividades que apresentar (KÖNIG et al., 2013).

Outro tipo de risco relacionado à biossegurança refere-se aos possíveis casos em que os produtos desenvolvidos pela Biologia Sintética sejam utilizados com intenções beligerantes, na produção de armas biológicas, por exemplo.

O Futuro da Biologia Sintética

A Biologia Sintética, seu potencial e suas implicações na sociedade têm sido tema de vários de relatórios feitos por organizações científicas, instituições de consultoria política, sociedade civil organizada e outros intervenientes (CHO et al., 1999; BUBELA et al., 2012; PAUWELS et al., 2012). Além do interesse comercial principalmente das empresas de capital de risco, o Departamento de Defesa e Energia dos Estados Unidos tem investido em projetos voltados ao desenvolvimento de produtos em energia renovável. Também na União Europeia existem programas de financiamento para projetos de pesquisa e políticas de Biologia Sintética. No Reino Unido, uma série de Redes em Biologia Sintética está sendo financiada.

Conclusões

A Biologia Sintética é um conceito amplo que engloba diferentes áreas do conhecimento, que visa reprogramar e criar

novos genes e organismos vivos, com propriedades específicas, para executarem atividades complexas de forma controlada e precisa, visando satisfazer os mais diversos objetivos, como proteção e melhoria da saúde humana, sustentabilidade alimentar e energética, e remediação ambiental.

O enorme potencial de aplicação dos conhecimentos da Biologia Sintética gera temeridade sobre as consequências que os novos processos e organismos terão sobre o equilíbrio dos ecossistemas e a possibilidade de utilização desses conhecimentos com intenções beligerantes.

Diante dos riscos potenciais é necessário que ocorra amplo debate envolvendo toda a sociedade para implantação de normas visando assegurar a preservação do meio ambiente e o uso adequado e pacífico das tecnologias geradas por Biologia Sintética.

Referências

ANNALURU, N.; RAMALINGAM, S.; CHANDRASEGARAN, S. Rewriting the blueprint of life by synthetic genomics and genome engineering. **Genome Biology**, v. 16, p. 125-137, 2015.

ANNALURU, N.; MULLER, H.; MITCHELL, L. A.; RAMALINGAM, S.; STRACQUADANIO, G.; RICHARDSON, S. M.; DYMOND, J. S.; KUANG, Z.; SCHEIFELE, L. Z.; COOPER, E. M.; CAI, Y.; ZELLER, K.; AGMON, N.; HAN, J. S.; HADJITHOMAS, M.; TULLMAN, J.; CARAVELLI, K.; CIRELLI, K.; GUO, Z.; LONDON, V.; YELURU, A.; MURUGAN, S.; KANDAVELOU, K.; AGIER, N.; FISCHER, G.; YANG, K.; MARTIN, J. A.; BILGEL, M.; BOHUTSKYI, P.; BOULIER, K. M.; CAPALDO, B. J.; CHANG, J.; CHAROEN, K.; CHOI, W. J.;

DENG, P.; DICARLO, J. E.; DOONG, J.; DUNN, J.; FEINBERG, J. I.; FERNANDEZ, C.; FLORIA, C. E.; GLADOWSKI, D.; HADIDI, P.; ISHIZUKA, I.; JABBARI, J.; LAU, C. Y. L.; LEE, P. A.; LI, S.; LIN, D.; LINDER, M. E.; LING, J.; LIU, J.; LIU, J.; LONDON, M.; MA, H.; MAO, J.; McDADE, J. E.; McMILLAN, A.; MOORE, A. M.; OH, W. C.; OUYANG, Y.; PATEL, R.; PAUL, M.; PAULSEN, L. C.; QIU, J.; RHEE, A.; RUBASHKIN, M. G.; SOH, I. Y.; SOTUYO, N. E.; SRINIVAS, V.; SUAREZ, A.; WONG, A.; WONG, R.; XIE, W. R.; XU, Y.; YU, A. T.; KOSZUL, R.; BADER, J. S.; BOEKE, J. D.; CHANDRASEGARAN, S. Total synthesis of a functional designer eukaryotic chromosome. **Science**, Washington, v. 4, p. 55-58, 2014.

BALL, P. Designs for life. **Nature**, London, v. 448, p. 32-33, 2007.

BALMER, A.; MARTIN, P. **Synthetic biology**: social and ethical challenges. Nottingham: University of Nottingham, 2008.

BECSKEI, A.; SERRANO, L. Engineering stability in gene networks by autoregulation. **Nature**, London, v. 405, p. 590-593, 2000.

BHUTKAR, A. Synthetic biology: navigating the challenges ahead. **Journal of Biolaw and Business**, v. 8, p.19-29, 2005.

BENNER, S. A. Biology from the bottom up. **Nature**, London, v. 452, p. 692-694, 2008.

BENNER, S. A.; SISMOUR, M. Synthetic biology. **Nature Reviews Genetics**, London, v. 6, p. 533-543, 2005.

BOLDT, J.; MULLER, O. Newtons of the leaves of grass. **Nature Biotechnology**, New York, v. 26, p. 387-389, 2008.

BOUDRY, M.; PIGLIUCCI, M. The mismeasure of machine: synthetic biology and the trouble with engineering metaphors. **Studies in History and Philosophy of Biological and Biomedical Sciences**, Oxford, v. 44, n. 4, p. 660-668, 2013.

BUBELA, T.; HAGEN, G.; EINSIEDEL, E. Synthetic biology confronts publics and policy makers: challenges for communication, regulation and commercialization. **Trends in Biotechnology**, Amsterdam, v. 30, p. 132-137, 2012.

BUESCHER, J. M.; LIEBERMEISTER, W.; JULES, M.; UHR, M.; MUNTEL, J.; BOTELLA, E.; HESSLING, B.; KLEIJN, R. J.; LE CHAT, L. Global network reorganization during dynamic adaptations of *Bacillus subtilis* metabolism. **Science**, Washington, v. 335, p. 1099-1103, 2012.

BUYX, A.; TAIT, J. Ethics. Ethical framework for biofuels. **Science**, Washington, v. 332, p. 540-54. 2011.

CARRER, H.; BARBOSA, A. L.; RAMIRO, D. A. Biotecnologia na agricultura. **Estudos Avançados**, São Paulo, v. 24, n. 70, p. 149-164, 2010.

CHINIQUY, D.; SHARMA, V.; SCHULTINK, A.; BAIDOO, E. E.; RAUTENGARTEN, C.; CHENG, K.; CARROLL, A.; ULVSKOV, P.; HARHOLT, J.; KEASLING, J. D.; PAULY, M.; SCHELLER, H. V.; RONALD, P. C. XAX1 from glycosyltransferase family 61 mediates xylosyltransfer to rice xylan. **Proceedings of the**

National Academy of Sciences of the United States of America, Washington, v. 109, n. 42, p. 17117-17122, 2012.

CHO, M. K.; MAGNUS, D.; CAPLAN, A. L.; McGEE, D. Ethical considerations in synthesizing a minimal genome. **Science**, Washington, v. 286, p. 2087-2090, 1999.

CORREIA, N. Relógios moleculares. In: PEREIRA, L.; RIBEIRO, F. M. **O Património genético português: a história humana preservada nos genes**. Lisboa: Ciência Aberta Gradiva, 2009.

CULLER, S. J.; HOFF, K. G.; SMOLKE, C. D. Reprogramming cellular behavior with RNA controllers responsive to endogenous proteins. **Science**, Washington, v. 330, p. 1251-1255, 2010.

CHEN, C. H.; HUANG, H.; WARD, C. W.; SU, J. T.; SCHAEFFER, L. V.; GUO, M.; HAY, B. A. A synthetic maternal-effect selfish genetic element drives population replacement in *Drosophila*. **Science**, Washington, v. 316, p. 597-600, 2007.

DELABAYS, N.; SIMONNET, X.; GAUDIN, M. The genetics of artemisinin content in *Artemisia annua* L. and the breeding of high yielding cultivars. **Current Medicinal Chemistry**, Schiphol, v. 8, p. 1795-1801, 2001.

DEPLAZES, A. Ethical implications of synthetic biology. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON GENOMICS AND SOCIETY, 2008, London. **Reinventing life?** Edinburg: University of Edinburg, 2008.

FESENKO, E.; EDWARDS, R. Plant synthetic biology: a new platform for industrial biotechnology. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 65, p. 1927-1937, 2014.

FOLEY, P. L.; SHULER, M. L. Considerations for the design and construction of a synthetic platform cell for biotechnological applications. **Biotechnology and Bioengineering**, New York, v. 105, p. 26-36, 2010.

GARDNER, T. S.; CANTOR, C. R.; COLLINS, J. J. Construction of a genetic toggle switch in *Escherichia coli*. **Nature**, London, v. 403, p. 339-342, 2000.

GELDRE, E. V.; VERGAUWE, A.; EEKHOUT, E. V. State of the art of the production of the antimalarial compound artemisinin in plant. **Plant Molecular Biology**, Dordrecht, v. 33, p. 199-209, 1997.

GIBSON, D. G.; BENDERS, G. A.; ANDREWS-PFANNKUCH, C.; DENISOVA, E. A.; BADEN-TILLSON, H.; ZAVERI, J.; STOCKWELL, T. B.; BROWNLEY, A.; THOMAS, D. W.; ALGIRE, M. A.; MERRYMAN, C.; YOUNG, L.; NOSKOV, V. N.; GLASS, J. I.; VENTER, J. C.; HUTCHISON III, C. A.; SMITH, H. O. Complete chemical synthesis, assembly, and cloning of a *Mycoplasma genitalium* genome. **Science**, Washington, v. 319, p. 1215-1220, 2008.

GIBSON, D. G.; GLASS, J. I.; LARTIGUE, C.; NOSKOV, V. N.; CHUANG, R. Y.; ALGIRE, M. A.; BENDERS, G. A.; MONTAGUE, M. G.; MA, L.; MOODIE, M. M.; MERRYMAN, C.; VASHEE, S.; KRISHNAKUMAR, R.; ASSAD-GARCIA, N.; ANDREWS-PFANNKUCH, C.; DENISOVA, E. A.; YOUNG, L.; QI, Z. Q.; SEGALL-SHAPIRO, T. H.; CALVEY, C. H.; PARMAR, P. P.;

HUTCHISON III, C. A.; SMITH, H. O.; VENTER, J. G. Creation of a bacterial cell controlled by a chemically synthesized genome. **Science**, Washington, v. 329, p. 52-56, 2010.

GRIFFITHS, A. J. F.; WESSLER, S. R.; LEWONTIN, R. C.; CARROLL S. B. **Introdução à genética**. 9. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008. 712 p.

GUAZZARONI, M. E.; SILVA-ROCHA R.; WARD, R. J. Synthetic biology approaches to improve biocatalyst identification in metagenomic library screening. **Microbial Biotechnology**, v. 8, n. 1, p. 52-64, 2015.

HAIMOVICH, A. D.; MUIR, P.; ISAACS, F. J. Genomes by design. **Nature Reviews Genetics**, London, v. 16, p. 501-516, 2015.

HAYDEN, E. C. Synthetic-biology firms shift focus: witch to food and fragrances risks consumer rejection. **Nature**, London, v. 505, p. 598, 2014.

HUTCHISON, C. A.; PETERSON, S. N.; GILL, S. R.; CLINE, R. T.; WHITE, O.; FRASER, C. M.; SMITH, H. O.; VENTER, J. G. Global transposon mutagenesis and a minimal *Mycoplasma* genome. **Science**, Washington, v. 286, p. 2165-2169, 1999.

JUHAS, M. On the road to synthetic life: the minimal cell and genome-scale engineering. **Critical Reviews in Biotechnology**, Boca Raton, v. 7, p. 1-8, 2015.

JUHAS, M.; REU, D. R.; ZHU, B.; COMMICHAU, F. M. *Bacillus subtilis* and *Escherichia coli* essential genes and minimal

cell factories after one decade of genome engineering.

Microbiology, Reading, v. 160, p. 2341-2351, 2014.

HICKS, M. A.; PRATHER, K. L. J. Bioprospecting in the genomic age. **Advances in Applied Microbiology**, San Diego, v. 87, p. 111-46, 2014.

KATHIRIA, P.; EUDES, F. Nucleases for genome editing in crops. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 3, p. 14-19, 2014.

KEASLING, J. D. Synthetic biology for synthetic chemistry. **ACS Chemical Biology**, Washington, v. 3, p. 64-76, 2008.

KHALIL, A. S.; COLLINS, J. J. Synthetic biology: applications come of age. **Nature Reviews Genetics**, London, v. 11, p. 367-379, 2010.

KOONIN, E. V. How many genes can make a cell: the minimal-gene-set concept. **Annual Review of Genomics and Human Genetics**, v. 1, p. 99-116, 2000.

KÖNIG, H.; FRANK, D.; HEIL, R.; COENEN, C. Synthetic genomics and synthetic biology applications between hopes and concerns. **Current Genomics**, v. 14, p. 11-24, 2013.

KRISHNAKUMAR, R.; LING, J. Experimental challenges of sense codon reassignment: an innovative approach to genetic code expansion. **FEBS Letters**, Amsterdam, v. 588, n. 3, p. 383-388, 2014.

LEE, M. N.; YE, C.; VILLANI, A. C.; RAJ, T.; LI, W.; EISENHAURE, T. M.; IMBOYWA, S. H.; CHIPENDO, P. I.; RAN, A.; SLOWIKOWSKI,

K.; WARD, L. D.; RADDASSI, K.; McCABE, C.; LEE, M. H.; FROHLICH, I. Y.; HAFLER, D. A.; KELLIS, M.; RAYCHAUDHURI, S.; ZHANG, F.; STRANGER, B. E.; BENOIST, C. O.; DE JAGER, P. L.; REGEV, A.; HACHOEN, N. Common genetic variants modulate pathogen-sensing responses in human dendritic cells. **Science**, Washington, v. 343, p. 1246980, 2014.

LEE, S. J.; LEE, S.-J.; LEE, D. W. Design and development of synthetic microbial platform cells for bioenergy. **Frontiers in Microbiology**, v. 4, p. 92-105, 2013.

LIEDER, S.; NIKEL, P. I.; LORENZO, V.; TAKORS, R. Genome reduction boosts heterologous gene expression in *Pseudomonas putida*. **Microbial Cell Factories**, v. 14, p. 23-37, 2015.

LIU, W.; STEWART JR., C. N. Plant synthetic biology. **Trends in Plant Science**, Oxford, v. 20, p. 309-317, 2015.

MALYSHEV, D. A.; DHAMI, K.; LAVERGNE, T.; CHEN, T.; DAI, N.; FOSTER, J. M.; CORRÊA, I. R.; ROMESBERG, F. E. A semi-synthetic organism with an expanded genetic alphabet. **Nature**, London, v. 509, p. 385-388, 2014.

MATZAS, M.; STÄHLER, P. F.; KEFER, N.; SIEBELT, N.; BOISGUÉRIN, V.; LEONARD, J. T.; KELLER, A.; STÄHLER, C. F.; HÄBERLE, P.; GHARIZADEH, B.; BABRZADEH, F.; CHURCH, G. M. High-fidelity gene synthesis by retrieval of sequence-verified DNA identified using high-throughput pyrosequencing. **Nature Biotechnology**, New York, v. 28, p. 1291-1294, 2010.

MIZOGUCHI, H.; MORI, H.; FUJIO, T. *Escherichia coli* minimum genome factory. **Biotechnology and Applied Biochemistry**, Duluth, v. 46, p. 157-167, 2007.

MIZOGUCHI, H.; SAWANO, Y.; KATO, J.; MORI, H. Superpositioning of deletions promotes growth of *Escherichia coli* with a reduced genome. **DNA Research**, v. 15, p. 277-284, 2008.

MORIMOTO, T.; KADOYA, R.; ENDO, K.; TOHATA, M.; SAWADA, K.; LIU, S.; OZAWA, T.; KODAMA, T.; KAKESHITA, H.; KAGEYAMA, Y.; MANABE, K.; KANAYA, S.; ARA, K.; OZAKI, K.; OGASAWARA, N. Enhanced recombinant protein productivity by genome reduction in *Bacillus subtilis*. **DNA Research**, v. 15, p. 73-81, 2008.

NEUMANN, H.; WANG, K.; DAVIS, L.; GARCIA-ALAI, M.; CHIN, J. W. Encoding multiple unnatural amino acids via evolution of a quadruplet-decoding ribosome. **Nature**, London, v. 464, p. 441-444, 2010.

NICOLAS, P.; MÄDER, U.; DERVYN, E.; ROCHAT, T.; LEDUC, A.; PIGEONNEAU, N.; BIDNENKO, E.; MARCHADIER, E.; HOEBEKE, M.; AYMERICH, S.; BECHER, D.; BISICCHIA, P.; BOTELLA, E.; DELUMEAU, O.; DOHERTY, G.; DENHAM, E. L.; FOGG, M. J.; FROMION, V.; GOELZER, A.; HANSEN, A.; HÄRTIG, E.; HARWOOD, C. R.; HOMUTH, G.; JARMER, H.; JULES, M.; KLIPP, E.; CHAT, L.; LECOINTE, F.; LEWIS, P.; LIEBERMEISTER, W.; MARCH, A.; MARS, R. A. T.; NANNAPANENI, P.; NOONE, D.; POHL, S.; RINN, B.; RÜGHEIMER, F.; SAPPA, P. K.; SAMSON, F.; SCHAFFER, M.; SCHWIKOWSKI, B.; STEIL, L.; STÜLKE, J.; WIEGERT, T.; DEVINE, K. M.; WILKINSON, A. J.; VAN DIJL, J. M.;

HECKER, M.; VÖLKER, U.; BESSIÈRES, P.; NOIROT, P. Global network reorganization during dynamic adaptations of *Bacillus subtilis* metabolism. **Science**, Washington, v. 2, p. 1099-1103, 2012a.

NICOLAS, P.; MÄDER, U.; DERVYN, E.; ROCHAT, T.; LEDUC, A.; PIGEONNEAU, N.; BIDNENKO, E.; MARCHADIER, E.; HOEBEKE, M.; AYMERICH, S.; BECHER, D.; BISICCHIA, P.; BOTELLA, E.; DELUMEAU, O.; DOHERTY, G.; DENHAM, E. L.; FOGG, M. J.; FROMION, V.; GOELZER, A.; HANSEN, A.; HÄRTIG, E.; HARWOOD, C. R.; HOMUTH, G.; JARMER, H.; JULES, M.; KLIPP, E.; CHAT, L.; LECOINTE, F.; LEWIS, P.; LIEBERMEISTER, W.; MARCH, A.; MARS, R. A. T.; NANNAPANENI, P.; NOONE, D.; POHL, S.; RINN, B.; RÜGHEIMER, F.; SAPPA, P. K.; SAMSON, F.; SCHAFFER, M.; SCHWIKOWSKI, B.; STEIL, L.; STÜLKE, J.; WIEGERT, T.; DEVINE, K. M.; WILKINSON, A. J.; VAN DIJL, J. M.; HECKER, M.; VÖLKER, U.; BESSIÈRES, P.; NOIROT, P. Condition-dependent transcriptome reveals high-level regulatory architecture in *Bacillus subtilis*. **Science**, Washington, v. 2, p. 1103-1106, 2012b.

PAUWELS, K.; WILLEMARCK, N.; BREYER, D.; HERMAN, P. Synthetic biology: latest developments, biosafety considerations and regulatory challenges. In: PEETERS, J. (Ed.). **Biosafety and biotechnology**. Brussels: [s.n.], 2012. 43 p.

RO, D. K.; PARADISE, E. M.; OUELLET, M.; FISHER, K. J.; NEWMAN, K. L.; NDUNGU, J. M.; HO, K. A.; EACHUS, R. A.; HAM, T. S.; KIRBY, J.; CHANG, M. C. Y.; WITHERS, S. T.; SHIBA, Y.; SARPONG, R.; KEASLING, J. D. Production of the antimalarial drug precursor artemisinic acid in engineered yeast. **Nature**, London, v. 440, p. 940-943, 2006.

ROBERTSON, D. E.; JACOBSON, S. A.; MORGAN, F.; BERRY, D.; CHURCH, G. M.; AFEYAN, N. B. A new dawn for industrial photosynthesis. **Photosynthesis Research**, Dordrecht, v. 107 p. 269-277, 2011.

ROQUET, N.; LU, T. K. Digital and analog gene circuits for biotechnology. **Biotechnology Journal**, Weinheim, v. 9, p. 597-608, 2014.

SARPESHKAR, R. Analog synthetic biology. **Philosophical Transactions of the Royal Society of London. A. Mathematical, Physical, and Engineering Sciences**, London, v. 372, p. 1-22, 2015.

SARRION-PERDIGONES, A.; VAZQUEZ-VILAR, M.; PALACÍ, J.; CASTELIJNS, B.; FORMENT, J.; ZIARSOLO, P.; BLANCA, J.; GRANELL, A.; ORZAEZ, D. GoldenBraid 2.0: a comprehensive DNA assembly framework for plant synthetic biology. **Plant Physiology**, Bethesda, v. 162, p. 1618-1631, 2013.

SCHMIDT, M.; GIERSCH, G. DNA synthesis and security. In: CAMPBELL, M. J. (Ed.). **DNA microarrays, synthesis and synthetic DNA**. New York: Nova Science Publishers, 2011. p. 285-300.

SERRANO, L.; VANCOMPERNOLLE, K. **Synthetic biology applying engineering to biology**. Brussels: European Commission, 2005. Report of a NEST high-level expert group.

SHEPPARD, M. J.; KUNJAPUR, A. M.; WENCK, S. J.; PRATHER, K. L. J. Retro-biosynthetic screening of a modular pathway design achieves selective route for microbial synthesis of

4-methyl-pentanol. **Nature Communications**, New York, v. 5, p. 1-10, 2014.

SCHWARTZ, J. J.; LEE, C.; SHENDURE, J. Accurate gene synthesis with tag-directed retrieval of sequence-verified DNA molecules. **Nature Methods**, New York, v. 9, p. 913-915, 2012.

SILVA-ROCHA, R.; TIE, K. A biologia sintética e a reprogramação de organismos vivos. **Ciência Hoje**, São Paulo, v. 53, p. 32, 2014.

SILVA-ROCHA, R.; MARTINEZ-GARCIA, E.; CALLES, B.; CHAVARRIA, M.; ARCE-RODRIGUEZ, A.; DE LAS HERAS, A. The standard european vector architecture (SEVA): a coherent platform for the analysis and deployment of complex prokaryotic phenotypes. **Nucleic Acids Research**, Oxford, v. 41, D666-D675, 2013.

TANAKA, K.; HENRY, C. S.; ZINNER, J. F.; JOLIVET, E.; COHOON, M. P.; XIA, F.; BIDNENKO, V.; EHRLICH, S. D.; STEVENS, R. L.; NOIROT, P. Building the repertoire of dispensable chromosome regions in *Bacillus subtilis* entails major refinement of cognate large-scale metabolic model. **Nucleic Acids Research**, Oxford, v. 41, p. 687-699, 2013.

TAVASSOLI, A.; LU, Q.; GAM, J.; PAN, H.; BENKOVIC, S. J.; COHEN, S. N. Inhibition of HIV budding by a genetically selected cyclic peptide targeting the Gag-TSG101 interaction. **ACS Chemical Biology**, Washington, v. 3, p. 757-764, 2008.

TERRA Via. Disponível em: <<http://www.solazyme.com>>. Acesso em: 02 ago. 2015.

VENKATARAMAN, S.; DIRKS, R. M.; UEDA, C. T.; PIERCE, N. A. Selective cell death mediated by small conditional RNAs. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, v. 107, p. 16777-16782, 2010.

VICKERS, C. E.; BLANK, L. M.; KRÖMER, J. O. Chassis cells for industrial biochemical production. **Nature Chemical Biology**, New York, v. 6, p. 875-877, 2010.

XIE, J.; SCHULTZ, P. G. Adding amino acids to the genetic repertoire. **Current Opinion in Chemical Biology**, London, v. 9, n. 6, p. 548-554, 2005.

XAVIER, J. C.; PATIL K. R.; ROCHA, I. Systems biology perspectives on minimal and simpler cells. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, New York, v. 78, n. 3, p. 487-509, 2014.

WEBER, W.; SCHOENMAKERS, R.; KELLER, B.; GITZINGER, M.; GRAU, T.; DAOUD-EL BABA, M.; SANDER, P.; FUSSENEGGER, M. A synthetic mammalian gene circuit reveals antituberculosis compounds. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, v. 105, p. 9994-9998, 2008.

XUE, X.; WANG, T.; JIANG, P.; SHAO, Y.; ZHOU, M.; ZHONG, L.; WU, R.; ZHOU, J.; XIA, H.; ZHAO, G.; QIN, Z. MEGA (Multiple Essential Genes Assembling) deletion and replacement method for genome reduction in *Escherichia coli*. **ACS Synthetic Biology**, v. 4, p. 700-706, 2015.

ZAKERI, B.; CARR, P. A. The limits of synthetic biology. **Trends in Biotechnology**, Amsterdam, v. 33, p. 57-58, 2015.



Ministério da
Agricultura, Pecuária
e Abastecimento



CGPE - 13212