

# DE MENDEL AOS TRANSGÊNICOS

Ilustrações: **Flávia Tonelli**

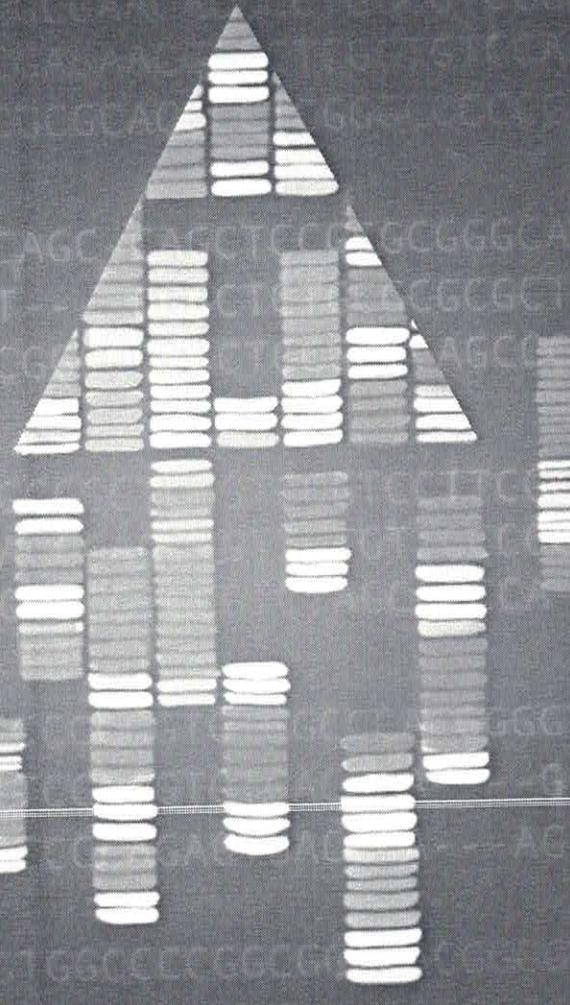
Texto: **Sabine W. Viana**

**Marco A. Machado**

**Isabela Fonseca**

**Marcos V. Gualberto**

**Marta F. Martins**



Trabalhando com cruzamentos de ervilhas, Gregor Mendel (1822-1884) descobriu os princípios da herança genética, mas somente a partir do século XX estes princípios passaram a ser aplicados e observados em estudos com animais, plantas e micro-organismos. Só anos mais tarde dos trabalhos de Mendel é que o DNA (ácido desoxirribonucleico) passou a ser reconhecido como a molécula "portadora" da herança genética. O DNA possui uma longa fita dupla e constituída de estruturas chamadas de nucleotídeos, que diferem-se entre si pelas bases nitrogenadas que os compõem: Adenina, Timina, Citosina e Guanina. Longas seqüências de nucleotídeos combinados (A, T, C ou G) armazenam toda a informação genética de um indivíduo. Em 1902, Walter Sutton propôs que os genes, constituídos por seqüências de DNA, estavam localizados nos cromossomos. Trabalhando com moscas de frutas em 1910, Thomas Hunt Morgan descobriu o primeiro mutante genético e, com seus estudos, compreendeu melhor muitos detalhes sobre a transmissão dos genes ao longo das gerações. Nos anos 1930, Ronald A. Fisher, John B. S. Haldane e Sewall Wright estabeleceram os fundamentos para a genética de populações, que estuda a distribuição e frequência dos alelos (formas alternativas do mesmo gene) e busca explicar os processos de formação de novas espécies e de adaptação ao ambiente.

Devido ao curto tempo de multiplicação e composição genética simples das bactérias e vírus, vários estudos foram realizados, na década de 1940, no sentido de investigar a estrutura e organização dos genes nestes micro-organismos. Em 1953, James Watson e Francis Crick descreveram a estrutura tridimensional do DNA, que lembra a união de



duas hélices compostas por sequências dos nucleotídeos. Este evento alterou o rumo da ciência, dando início aos estudos de genética molecular, e comemora 60 anos neste ano de 2013.

Por volta de 1966, a estrutura química do DNA e o código genético, sistema pelo qual a sequência de aminoácidos das proteínas é determinada, passaram a ser pesquisados. Em 1977, Walter Gilbert e Frederick Sanger desenvolveram métodos para identificar a sequência do DNA. Em 1995, a primeira sequência completa de DNA de um organismo vivo foi determinada, a partir de então, o DNA de diversos outros organismos têm sido sequenciados, permitindo estudos minuciosos e detalhados de seus genomas.

Com o conhecimento da sequência de DNA é possível selecionar determinadas características de interesse. No caso da bovinocultura de leite, a resistência a parasitos como carrapatos e vermes, a doenças, maior produção de leite, fertilidade, eficiência alimentar e adaptação a determinados ambientes são características trabalhadas nos programas de melhoramento genético. Estas características de interesse estudadas são denominadas de fenótipos, que são o resultado do componente genético do animal e da sua interação com o meio ambiente. A seleção de animais, com base nos fenótipos, nem sempre é precisa, pois o fenótipo não é uma indicação exata do genótipo, que passa de pai para filho. Como o fenótipo de um animal pode variar de acordo com o ambiente, uma vaca, por exemplo, que produz um volume de leite em determinada condição de manejo, pode não chegar ao mesmo volume ou pode

## **A resistência a parasitos como carrapatos e vermes, a doenças, maior produção de leite, fertilidade, eficiência alimentar e adaptação a determinados ambientes são características trabalhadas nos programas de melhoramento genético.**

até ultrapassá-lo em uma condição diferente. Desta maneira, os cientistas buscam o conhecimento detalhado dos genes que controlam as características de interesse em diversas espécies, visando poder identificar e selecionar as melhores combinações genéticas para diversos fins.

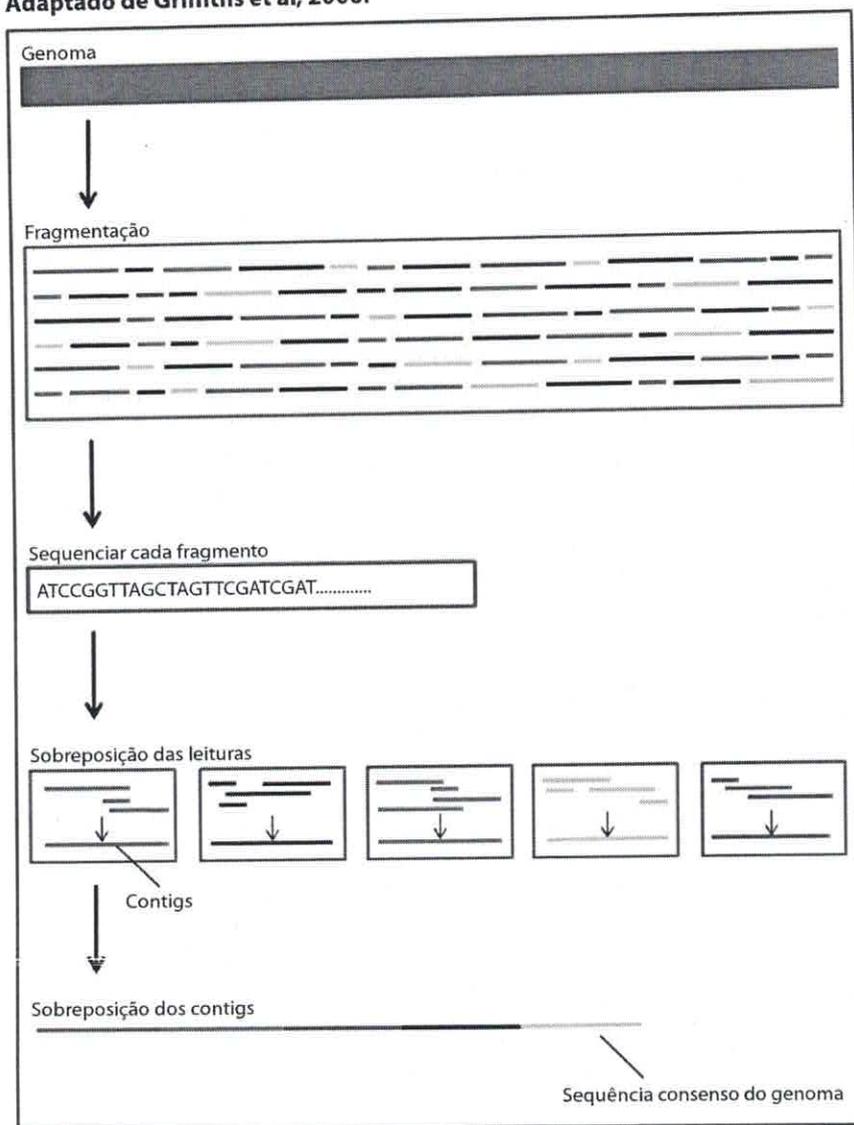
Para investigar a composição genética dos indivíduos, várias técnicas moleculares vêm sendo desenvolvidas durante os últimos 30 anos, principalmente a técnica de PCR, os marcadores moleculares e o sequenciamento do DNA. A técnica de PCR, do Inglês "Polymerase Chain Reaction" ou Reação em Cadeia da Polimerase, revolucionou a biologia molecular, pois ela permite sintetizar, "in vitro", grande quantidade de sequências de DNA a partir de uma pequena amostra biológica, que contém DNA. Esta técnica é amplamente utilizada em inúmeras aplicações como, investigação de paternidade, exames laboratoriais para identificação de doenças, criminalística, etc.

Um grande avanço para o desenvolvimento desta área foi o sequenciamento do genoma humano, que foi realizado por uma parceria entre diversos centros de pesquisa em todo o mundo e demorou treze anos (1990-2003) para ser finalizado. Neste grande trabalho em equipe, foram identificados cerca de

20 mil genes codificados por aproximadamente três bilhões de nucleotídeos (unidade básica da cadeia de DNA, ou três bilhões de letras - A, T, G e C). Para entendermos um pouco como o sequenciamento é feito, podemos imaginar o genoma como uma fita (Figura 1). Esta fita é quebrada em diversos fragmentos. Estes fragmentos são sequenciados e as leituras são unidas por suas áreas de sobreposição, utilizando ferramentas de bioinformática, gerando pequenas sequências denominadas "contigs" que, por sua vez, são reunidas para formar uma sequência única chamada de consenso. Esta sequência é o código que armazena toda a informação genética do organismo, ou o genoma.

Na época em que foi realizado o sequenciamento do genoma humano, o tempo e o custo para realizar estes sequenciamentos era enorme. Inicialmente, a estimativa de gasto do sequenciamento era de um dólar por nucleotídeo, mas o custo real foi de cerca de 0,65 dólares, totalizando dois bilhões de dólares no final do projeto. A tecnologia permitia o sequenciamento de fragmentos grandes, que depois tinham que ser analisados em computadores que possuíam uma capacidade limitada de processamento dos dados. Com o avanço das tecnologias, tanto na área da informática com o desenvolvimento

**Figura 1. Esquema do processo de sequenciamento de um genoma.**  
Adaptado de Griffiths et al, 2006.



anos e envolveu cientistas de 22 países, incluindo o Brasil.

Em 2012, o Brasil apresentou os primeiros resultados do sequenciamento do genoma de animais de raças zebuínas para leite (Gir Leiteiro e Guzerá), totalmente realizado no País. Os animais da Raça Gir e Guzerá pertencem à subespécie *Bos indicus* e são de origem indiana. Eles possuem grande importância econômica para o Brasil e países de clima tropical, uma vez que são animais rústicos e se adequam melhor às regiões de temperaturas mais elevadas. A maioria dos rebanhos bovinos no nosso país é formada pelo Zebu (Nelore, Gir, Guzerá e Indubrasil) e seus mestiços com raças europeias, o que demonstra a importância deste estudo para o desenvolvimento do melhoramento genético do gado zebuíno. Já foram identificadas diferenças significativas entre o genoma do Gir Leiteiro e Guzerá em relação ao gado europeu. No momento, estão sendo identificados os marcadores moleculares que serão utilizados para a seleção de animais geneticamente superiores. O trabalho é coordenado pela Embrapa Gado de Leite e envolve a Fiocruz - Instituto René Rachou; Universidade Federal de Minas Gerais; a SECTES por meio dos Polos de Excelência do Leite e Genética Bovina; Epamig e as associações de criadores do Gir Leiteiro (ABCGIL) e Guzerá (CBMG2).

Mas, e depois do sequenciamento? O que vai acontecer? A identificação individual das variações nas sequências de DNA tem contribuído para uma melhor utilização dos recursos genéticos e rapidez na seleção das características

de novas metodologias de análise e capacidade de processamento das informações, quanto na área molecular com a disponibilização de novas plataformas de sequenciamento mais rápidas e que permitiam maior cobertura (número de leituras de um fragmento) das sequências, o custo caiu de centenas de milhares de dólares para cerca de um a cinco mil dólares, dependendo da tecnologia utilizada e do organismo estudado, e

a capacidade e confiabilidade dos sequenciamentos aumentou.

O genoma bovino foi sequenciado em 2009, de um animal da raça Hereford que pertence à subespécie *Bos taurus*, e assim como o genoma humano, possui cerca de 22 mil genes codificados por aproximadamente três bilhões de bases. Contudo, o projeto de sequenciamento do genoma bovino foi realizado em menos tempo, durou seis

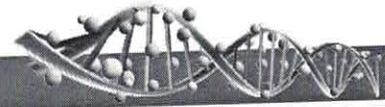
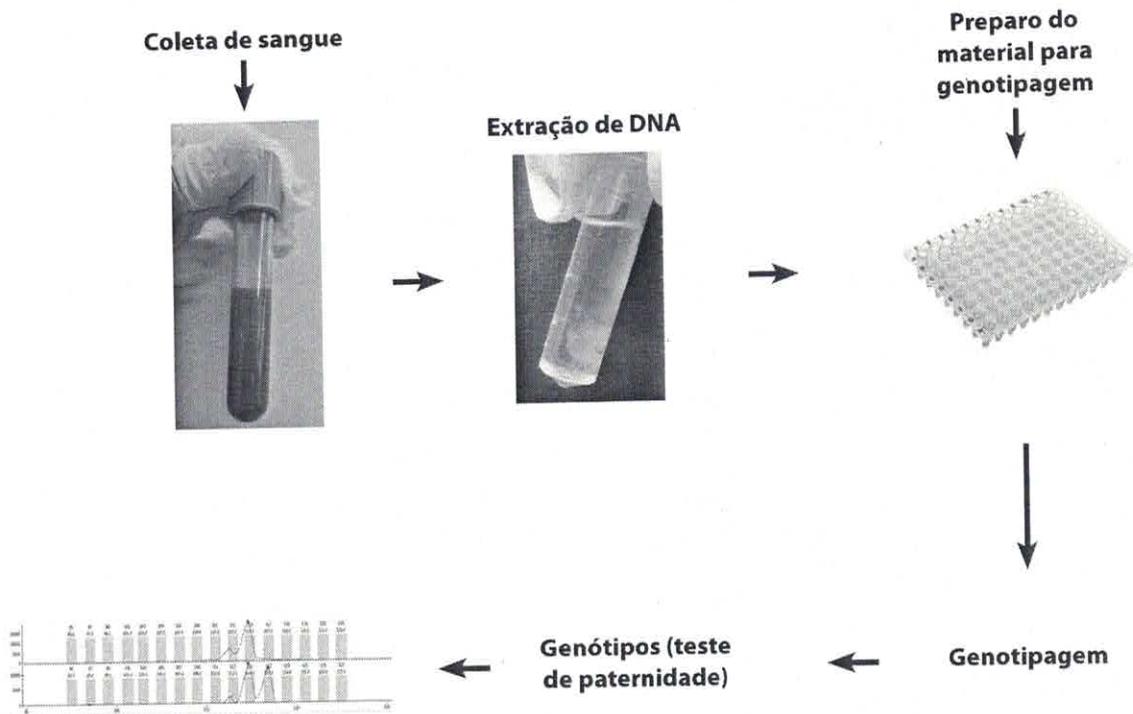


Figura 2. Exame de paternidade pelo DNA: da coleta da amostra biológica até a entrega do resultado.



de interesse. Com as informações dos genomas em mãos, os cientistas podem trabalhar de maneira mais direcionada, pontual. Os processos de genotipagem, como os testes de paternidade (Figura 2) e identificação de animais que carregam em seus genes mutações relacionadas a doenças, se tornaram mais rápidos e eficientes.

Assim como os computadores, as ferramentas de pesquisa também evoluíram rapidamente para equipamentos cada vez menores e com maior capacidade de processamento da informação. Estamos vivendo a era da nanotecnologia, na qual podemos realizar sequenciamento do DNA em microchips, avaliar o genótipo ou a expressão gênica em pequenas lâminas de vidro,

avaliando milhares de genes ao mesmo tempo. O volume de dados que conseguimos trabalhar para cada animal é enorme e muito informativo.

Como apresentado anteriormente, o século XXI está sendo marcado pelo uso de tecnologias avançadas para os estudos dos genomas e suas variações. Além disso, existem ainda outras inovações no ramo da pesquisa como a clonagem de animais, que é a utilização de células de um organismo para produzir outro com o mesmo material genético, e a transgenia, que é a produção de organismos com genes diferentes inseridos no seu genoma. Estes genes podem ser de uma espécie diferente ou cópias extras de genes da própria espécie.

O clone mais famoso da história foi

a ovelha Dolly. Ela nasceu em 1996 e morreu em 2003 devido a problemas de saúde diversos. Contudo, ela não foi o primeiro animal clonado. Outros já haviam sido relatados, mas utilizando células de embriões. Dolly foi clonada utilizando células de um animal adulto, o que gerou mais uma inovação na ciência e demonstrou que animais de grande valor comercial ou em risco de extinção poderiam ser clonados sem depender necessariamente de células embrionárias.

Em 2001, a Embrapa produziu a Vitória, que foi a primeira bezerra gerada por clonagem de células de embriões no Brasil e na América Latina. Vitória era um animal da raça Simental, que viveu por 10 anos, morrendo em 2011.

A partir de então, outros bovinos clones foram gerados a partir de células de animais adultos nas raças Nelore (UNESP - 2002), Holandês (Embrapa - 2003), Junqueira (EMBRAPA - 2005), Gir (Embrapa - 2010), Guzerá (Cenatte Embrões - 2011), Brahman (Geneal - 2011). O domínio da técnica de clonagem permite a reprodução de animais de alto valor genético e comercial, além de viabilizar a criação de bancos de células de animais de diversas raças para uso no futuro, mantendo a variabilidade genética dentro de raças com poucas opções de cruzamentos.

Outra aplicação para a técnica de clonagem é viabilizar a produção de animais transgênicos. Um transgênico é criado introduzindo um ou mais genes, que irão codificar proteínas de interesse no genoma de outro organismo. A célula onde ocorre esta alteração é utilizada para clonagem em oócitos, que se desenvolvem em embriões e, posteriormente, são transferidos para receptoras. Desta forma, o organismo passa a ser classificado como OGM (organismo geneticamente modificado). Atualmente, o desafio é a criação de animais transgênicos para diversas finalidades. Na área médica, o objetivo é a produção de proteínas que possam ser utilizadas no tratamento de doenças como a diabetes. Uma vaca pode ser modificada geneticamente para produzir insulina no leite, ou ainda produzir leite com menos lactose para pessoas alérgicas, ou leite com menos colesterol. Na área de saúde animal, o objetivo é obter animais mais resistentes a doenças como a mastite, por exemplo. Existem inúmeras

aplicações, e alguns resultados já podem ser observados.

Na Argentina, em 2002, foi produzida a primeira vaca transgênica da América Latina, capaz de produzir no leite o hormônio humano de crescimento. Nos Estados Unidos, uma cabra transgênica produz lisozima humana no leite, uma enzima capaz de ajudar no tratamento da diarreia. Também na Argentina, foi produzida uma vaca modificada, contendo genes para produção de duas proteínas do leite humano: lactoferrina e lisozima. O objetivo desta pesquisa foi ajudar na redução da mortalidade infantil de bebês que não têm acesso ao leite materno. Um exemplo no Brasil é o da Embrapa Gado de Leite que tem conduzido pesquisas para desenvolver e aperfeiçoar biotecnologias para a produção de embriões geneticamente modificados a fim de aumentar a eficiência do processo de geração de animais transgênicos. Segundo o pesquisador Luiz Sérgio de Almeida Camargo, que coordena o projeto, essas biotecnologias associadas à genômica deverão permitir a produção de rebanhos mais tolerantes a endo e ectoparasitos e/ou resistentes a doenças e, assim, contribuir para o aumento da eficiência da pecuária leiteira, reduzindo uso de antibióticos, inseticidas e vermíficos. Além disso, animais transgênicos podem também ser gerados para a produção de biofármacos para a saúde humana e animal, refletindo em maior produção de medicamentos a menores custos.

À medida que as técnicas se desenvolvem e se tornam mais acessíveis, aumentam as opções de produção de ani-

mais "personalizados", mas este ainda é um cenário para o futuro. ■

**Sabine Wohlfres Viana**  
Pós Graduada - UFF

**Marco Antônio Machado**  
Pesquisador A - Embrapa Gado de Leite

**Isabela Fonseca**  
Pós Graduada - UFF

**Marcos Vinícius Gualberto Barbosa da Silva**  
Pesquisador A - Embrapa Gado de Leite

**Marta Fonseca Martins**  
Pesquisador A - Embrapa Gado de Leite  
marta.martins@embrapa.br