

Tecnologia do DNA recombinante e biologia sintética: opção viável para a intensificação sustentável da produção agrícola e da biodiversidade

Elbio Leopoldo Rech Filho¹

A segurança alimentar é um dos principais desafios globais do século. Até 2050, será necessário aumentar a produção agrícola do mundo para alimentar uma população global prevista de 9 bilhões de habitantes. Os cenários mais otimistas indicam que será necessário aumentar a produção de alimentos em pelo menos 50%. A demanda por produtos agrícolas e alimentícios provocada pelo crescimento demográfico e por mudanças nos padrões de consumo se tornará mais aguda nos próximos cinquenta anos. As tecnologias de produção agrícola também precisarão sustentar o meio ambiente, preservar os recursos naturais e apoiar os meios de vida de agricultores e populações rurais em todo mundo. Observa-se uma necessidade premente de uma intensificação sustentável da agricultura global, no sentido de aumentar a produtividade com a redução nos impactos ambientais adversos e redução da expansão da fronteira agrícola. Para garantir uma oferta adequada de alimentos para o mundo inteiro, será necessário um esforço internacional urgente com uma clara compreensão dos desafios e possibilidades envolvidos no longo prazo.

É vital que esforços governamentais sejam envidados para estabelecer uma estratégia clara para a segurança alimentar com base em critérios de sustentabilidade. A capacidade de inovar no desenvolvimento de tecnologias para o setor agrícola exige uma abordagem multidisciplinar que envolva genética, matemática, física, química, ecologia, ciências agrícolas, entre outras. Resultados de pesquisas nessas áreas podem ser usados para desenvolver uma compreensão preditiva e opções robustas que, vinculadas às ciências sociais e econômicas, possam ser usadas para a necessária intensificação sustentável da agricultura. A biotecnologia avançada e atividades

¹ Pesquisador da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa).

científicas financiadas pelos setores público e privado deverão desempenhar um papel vital na intensificação sustentável de cultivos alimentares. O Brasil tem a responsabilidade e a capacidade de assumir um papel de liderança no desenvolvimento de uma ampla gama de soluções científicas que possam mitigar essa escassez de alimentos em potencial. Isso exigirá financiamentos significativos e ações operacionais efetivas e focadas para pesquisas científicas multidisciplinares nas áreas da segurança alimentar e da biotecnologia.

O desafio é ampliar o uso de melhores práticas em áreas que ainda não se beneficiaram de uma maior produtividade. A questão da segurança alimentar é obviamente global. A demanda por alimentos nos países ricos desviará a oferta de nações mais pobres, e os mercados internacionais não conseguirão, por si sós, resolver a questão da insegurança alimentar global em bases equitativas e sustentáveis. A importância da distribuição fica clara neste contexto, bem como a do uso mais intensivo dos conhecimentos existentes e sua operacionalização efetiva. Reconhece-se, também, que apenas aumentar a produção não resolverá problemas relacionados à pobreza ou à fome. A complexidade do desafio da segurança alimentar exige a necessidade de outros considerarem diferentes aspectos da segurança alimentar. É, portanto, crucial que pesquisas relevantes, a capacidade de realizar essas pesquisas e o sistema que traduz essas pesquisas em resultados concretos sejam reforçados na maior brevidade possível. Observa-se uma clara necessidade de políticas adequadas e pesquisas científicas publicamente financiadas. Políticas científicas e de inovação, inclusive serviços de extensão e regimes de propriedade intelectual, devem ser alinhadas para garantir que os benefícios das pesquisas sejam compartilhados. Os setores público e privado dispõem de especialistas nessas áreas. Há oportunidades para a realização de pesquisas em todos os setores com vistas a promover a intensificação sustentável da agricultura global. Um forte envolvimento do setor público é essencial para garantir a implementação de programas de longo prazo. É improvável que mecanismos de mercado consigam, por si sós, gerar melhores cultivos e práticas capazes de solucionar problemas enfrentados por pessoas em situação de pobreza. A realização de pesquisas básicas no setor público deve também reduzir a probabilidade de que restrições relacionadas à propriedade intelectual impeçam o uso generalizado de tecnologias adequadas nos países em desenvolvimento ou em benefício do meio ambiente. No entanto, o envolvimento do setor privado é essencial para que os resultados de pesquisas científicas financiadas pelo setor público se traduzam em aplicações agrícolas práticas. Para garantir que pesquisas científicas na área das culturas alimentares sejam adequadamente direcionadas, é importante que haja uma boa comunicação entre pesquisadores, agricultores e a indústria tanto em países industrializados como em desenvolvimento. Os serviços de extensão agrícola devem ser um componente crucial de qualquer estratégia definida para garantir que os avanços científicos sejam adequadamente direcionados. Esses serviços oferecem um mecanismo pelo qual agricultores podem ser informados sobre novos desenvolvimentos tecnológicos, além de uma rota pela qual o retorno de informações de agricultores pode ser aproveitado pelos pesquisadores. Eles podem também ajudar a manter a comunidade científica adequadamente informada para

direcionar inovações tecnológicas para as áreas que mais precisam delas. Os serviços de extensão também ajudam agricultores a trabalharem juntos em prol da produção alimentar e do meio ambiente. Uma sondagem contínua de possíveis horizontes no intuito de identificar problemas futuros, associados às avaliações e ao uso de modelos e experimentos, deve melhorar a nossa capacidade de tomar decisões quando há provas concretas disponíveis. É vital que seja lançada uma iniciativa global voltada para a intensificação sustentável de cultivos alimentares, com um componente importante de pesquisa na área da biotecnologia avançada.

As restrições impostas aos cultivos alimentares são bem compreendidas, mas variam substancialmente entre diferentes regiões. A disponibilidade de crédito, terras, ferramentas simples, água e solos adequadamente férteis é um importante fator restritivo. Grandes perdas de produtividade ocorrem em decorrência de pragas, doenças e ervas daninhas. Manter e melhorar a diversidade dos recursos genéticos das lavouras é vital para facilitar o melhoramento de espécies cultivadas e aumentar a resiliência de cultivos alimentares. A superação dessas restrições exige tecnologias e abordagens apoiadas em boas práticas científicas. Algumas dessas tecnologias aproveitam conhecimentos existentes, enquanto outras constituem abordagens completamente radicais baseadas na genômica, em organismos geneticamente modificados e processos analíticos de alto desempenho.

Novos métodos de pesquisa podem contribuir para aumentar a produção de cultivos alimentares por meio de melhorias genéticas em culturas e de novas práticas de gestão de culturas e do solo. Melhorias genéticas em culturas podem ocorrer por meio do melhoramento de espécies cultivadas ou de modificações genéticas visando à introdução de diversas características de interesse. A aplicação da tecnologia do DNA recombinante tem o potencial de refinar as culturas existentes e proporcionar melhorias incrementais. Esses métodos também podem introduzir melhorias radicais e altamente significativas nas culturas, aumentando a eficiência fotossintética, reduzindo a necessidade de nitrogênio e outros fertilizantes e liberando alguns dos potenciais latentes dos genomas vegetais. Além disso, espera-se que a expansão e a intensificação do agro-negócio produzam moléculas recombinantes para os setores industrial e de saúde. A ciência da gestão das culturas e da prática agrícola também deve ser particularmente enfatizada como parte do grande desafio da segurança alimentar. Essas abordagens podem remover restrições importantes que afetam as variedades de culturas existentes, podendo ser amplamente aplicáveis. As abordagens existentes atualmente maximizam a produção dentro de sistemas agrícolas insustentáveis; são necessárias novas tecnologias que utilizem todos os elementos do sistema agrícola, incluindo uma melhor gestão do solo e a melhoria e aproveitamento das populações de micróbios benéficos do solo.

Os debates anteriores sobre o uso de novas tecnologias para a agricultura tendiam a adotar um enfoque exclusivista, ressaltando os méritos de determinados sistemas de produção agrícola ou

abordagens tecnológicas e as desvantagens de outros. Isso é particularmente evidente no que se refere aos produtos geneticamente modificados (GM), ao uso de pesticidas e aos argumentos pró e contra os modos de produção orgânicos. Esses debates deixam de reconhecer que não há nenhuma panaceia tecnológica para o desafio global da produção alimentar sustentável e segura. Sempre será preciso lidar com evidências e as complexidades locais. Nenhuma técnica ou tecnologia comprovada deve ser descartada. A agricultura global requer uma diversidade de abordagens específicas para cultivos, lugares, culturas e outras circunstâncias. Essa diversidade exige que a amplitude da investigação científica relevante seja igualmente diversificada e que a ciência seja combinada às perspectivas sociais, econômicas e políticas. No entanto, há claras evidências demonstrando a importância fundamental e indispensável da ciência avançada, inclusive a biotecnologia, incluindo principalmente a tecnologia do DNA recombinante e biologia sintética como uma base para alcançar os objetivos finais de intensificação da agricultura sustentável. Além do apoio à ciência de alta qualidade, é necessário manter e reforçar a sua capacidade de inovar, em colaboração com centros de investigação nacionais e internacionais. A formação profissional em ciências agrárias e biotecnologia deve continuar a ser apoiada e intensificada. Os serviços de extensão agrícola, que conectam os agricultores às inovações, necessitam ser intensificados de forma urgente. Há uma necessidade premente de rever o apoio e a prestação de serviços de extensão, particularmente nos países em desenvolvimento. A gestão da inovação para a agricultura deve maximizar as oportunidades de aumento da produção e, ao mesmo tempo, proteger as sociedades, as economias e o meio ambiente contra efeitos colaterais negativos. Os sistemas regulatórios devem melhorar a sua avaliação dos benefícios. O exame do que o futuro nos reserva garantirá uma consideração pró-ativa das opções tecnológicas por parte dos governos. A avaliação dos benefícios, riscos e incertezas deve ser abrangente, incluindo também o impacto mais amplo das novas tecnologias e práticas sobre as economias e sociedades. O diálogo com o público e com as partes interessadas — particularmente ONG, cientistas e agricultores — deve ser incorporado a todas as estruturas de governança. Ele deve ser informado pelo diálogo com os agricultores, outras partes interessadas e representantes do público em geral. As recomendações a seguir justificam a alocação desses fundos a pesquisas excelentes e relevantes, treinamento em pesquisa e transferência de tecnologia. As pesquisas colaborativas internacionais com bases científicas emergentes devem ser intensificadas e tornadas mais efetivas e operacionais.

A ciência que sustenta a produção de culturas alimentares — como todas as outras áreas da biologia — está sendo revolucionada por várias inovações tecnológicas, inclusive as que vêm ocorrendo na manipulação genética e sistemas biológicos de alto desempenho, envolvendo a biologia molecular e bioquímica e sintética. Essas tecnologias agora são altamente sensíveis e podem ser aplicadas em um modo de alta produtividade, permitindo analisar muitos organismos — às vezes milhares — em um único experimento. As ferramentas de mapeamento permitem analisar organismos inteiros, visualizar estruturas subcelulares e caracterizar detalhadamente os

componentes químicos das células. Tecnologias novas, precisas e informativas disponíveis para pesquisa são baseadas na capacidade de determinar sequências genômicas de maneira relativamente rápida e com custo reduzido, na manipulação genética da maioria dos organismos vivos e na avaliação bioquímica em nível atômico. Essas tecnologias ganham poder adicional com o uso generalizado de tecnologias computacionais para lidar com grandes conjuntos de dados. Os processos biológicos relevantes para a produtividade das culturas alimentares agora podem ser dissecados de forma mais completa, gerando uma oportunidade sem precedentes para traduzir essas pesquisas em melhoramentos genéticos de culturas ou mudanças no manejo de culturas.

As sequências dos genomas são particularmente importantes, porque fornecem detalhes sobre todos os genes de um organismo e as proteínas que ele pode sintetizar. Quando é ligada às novas metodologias para atribuição de função aos genes e às tecnologias de alta performance para análise de RNA, proteínas e outras moléculas. A análise das sequências genômicas é conhecida como genômica e oferece uma tecnologia importante para a investigação detalhada de processos biológicos complexos.

Genes ou combinações de genes que afetam a produção agrícola podem ser identificados com o uso da genômica. Nas estratégias de melhoramento genético, esses genes podem ser utilizados podem ser transferidos para os diferentes organismos utilizando a tecnologia do DNA recombinante, como será descrito a seguir. Entretanto, convém salientar que as informações provenientes de estudos genômicos também são importantes para a ciência subjacente às modificações no manejo das culturas vegetais. As informações sobre genes, proteínas e metabólitos em plantas cultivadas permitem desenvolver estratégias de manejo que maximizem o desempenho agrônomo das culturas de maneira sustentável. As novas metodologias de determinação de sequências de DNA exibem ganhos de eficiência exponenciais com relação aos métodos usados na primeira geração de sequências genômicas de organismos modelos e humanas. Há várias versões desses novos métodos e é provável que outras venham a surgir no futuro próximo. O sequenciamento de um genoma transformou-se de um projeto multimilionário em algo que custa atualmente alguns poucos milhares de dólares para obter um genoma completo. A geração de dados da sequência de DNA agora é simples a um custo muito mais reduzido: a análise computacional e anotação da sequência é a parte mais cara e demorada de um projeto genômico e também deve ser estimulada.

O uso da tecnologia do DNA recombinante permite modificar por meio de engenharia genética, novos genes são introduzidos em uma planta cultivada. Os genes inseridos podem ser da mesma espécie (no que é conhecido como cisgenia) ou de outra espécie (transgenia). Os métodos baseados na modificação genética têm sido amplamente utilizados como ferramentas rotineiras de pesquisa e tem proporcionado avanços significativos na genética vegetal nos últimos 25 anos. São também particularmente importantes para a meta de atribuição de função a cada um dos

milhares de genes já identificados nos genomas de diferentes espécies e elucidação das rotas metabólicas. A primeira geração de tecnologias de modificação genética, incluindo aquelas empregadas em aplicações comerciais, envolve a inserção de novos genes no genoma receptor e a seleção baseada no melhor desempenho.

A engenharia genética de organismos oferece uma alternativa à síntese química de medicamentos e à extração de produtos biofarmacêuticos naturais, com a produção de moléculas terapêuticas complexas em bactérias, leveduras e células de origem animal. No entanto, as limitações bioquímicas, técnicas e econômicas dos sistemas existentes de expressão procariótica e eucariótica e a crescente demanda clínica por proteínas terapêuticas complexas têm gerado um interesse substancial no desenvolvimento de novos sistemas de expressão para a produção de proteínas terapêuticas. Nesse contexto, surgiram nas duas últimas décadas plataformas à base de plantas que oferecem uma alternativa adequada aos sistemas atuais de produção de biofármacos recombinantes.

A intensificação da utilização da tecnologia do DNA recombinante para:

1. Produzir alimentos de maneira mais econômica, melhorando a produtividade e as práticas agrícolas associadas à agricultura;
2. Melhorar a qualidade nutricional dos alimentos e aumentar os níveis de compostos que geram benefícios à saúde;
3. Aumentar a vida útil e a qualidade dos frutos e produtos correlatos;
4. Reduzir os compostos alergênicos em alimentos;
5. Criar culturas que possam ser usadas como vacinas e outros benefícios para a medicina;
6. Converter solos tóxicos em terras mais produtivas para a agricultura;
7. Produzir proteínas recombinantes em plantas e animais;
8. Desenvolver processos e produtos utilizando a biologia sintética e manipulação de rotas metabólicas;
9. Desenvolver produtos e processos que efetivamente contribuam para a redução da emissão de CO₂ na atmosfera;
10. Manipular e desenvolver novos sistemas biológicos e rotas metabólicas por meio da biologia sintética.

Quanto às tecnologias analíticas para caracterização, no passado a espectrometria de massa era confinada ao domínio das moléculas pequenas; as moléculas grandes não sobreviviam intactas ao processo de dessorção e ionização. Mais recentemente, o desenvolvimento de novos métodos de dessorção e ionização revolucionou a análise de biomoléculas grandes, transformando a espectrometria de massa em uma importante ferramenta analítica de pesquisa biológica. A espectrometria de massa (MS) tornou-se uma ferramenta indispensável para a análise da estrutura de peptídeos e proteínas graças a três capacidades únicas que permitem o seu uso para resolver problemas estruturais que não são facilmente solucionados por técnicas convencionais.

A metabolômica agora desempenha um papel significativo na biologia vegetal básica e aplicada à biotecnologia. As plantas, coletivamente, geram uma enorme variedade de produtos químicos, muito superior aos que são produzidos pela maioria dos outros organismos; portanto, a metabolômica é extremamente importante na biologia vegetal. A biologia de sistemas orientada por dados metabolômicos ajudará a decifrar os segredos dos sistemas celulares vegetais e sua aplicação à biotecnologia.

Regulamentação e propriedade intelectual - Os exemplos de novas tecnologias de cultivo, especialmente culturas geneticamente modificadas, são protegidos por patentes. Essa estratégia tem estimulado o desenvolvimento comercial dos produtos e suas aplicações nas commodities. Entretanto, há uma necessidade clara de que o setor público, as empresas privadas e os agricultores aumentem sua capacidade de projetar e construir sistemas confiáveis e econômicos de proteção à propriedade intelectual compatíveis com as necessidades de cada país associado às normas e à estrutura regulatória internacional. Referente a regulamentação, o custo das etapas requeridas ultrapassam 5 milhões de dólares. Esse custo poderá inviabilizar o desenvolvimento de culturas importantes, mas sem a pujança das commodities. Essa questão requer uma ação que permita detectar que setor poderá custear o processo.

A tecnologia do DNA recombinante tem contribuído significativamente para os setores produtivos agrícola, farmacêutico e industrial. A ciência de fronteira desempenhará um papel importante na intensificação do desenvolvimento sustentável dos setores produtivos.

1. Estudo de caso

Abaixo segue a descrição sucinta de alguns produtos e processos envolvendo a utilização da tecnologia do DNA desenvolvidos e em desenvolvimento na Embrapa, que poderão contribuir como subsídios para determinações de prioridades da C&T nacional.

1.1. Soja geneticamente modificada BASF/Embrapa. Um modelo de colaboração entre empresas privadas e públicas no desenvolvimento de produtos com impacto econômico mundial

Colaboração: Embrapa (Brasil) e BASF (Alemanha) – Desenvolvimento de soja tolerante a herbicidas por engenharia genética: do gene para o mercado. A Embrapa e a BASF desenvolveram conjuntamente uma variedade de soja tolerante a herbicidas no Brasil. Essa nova variedade de soja será chamada de Cultivance®. A CTNBio afirmou que a soja transgênica desenvolvida está em conformidade com as normas e leis de biossegurança para o meio ambiente, agricultura e saúde humana e animal. A decisão permitirá que a BASF e a Embrapa ofereçam o novo sistema de produção a agricultores em todo o mundo. As empresas estão buscando a aprovação do produto em vários outros países que são compradores importantes de soja brasileira, inclusive China e UE. A data estimada para o lançamento no Brasil será 2011. A soja Cultivance® será a primeira variedade de cultivo geneticamente modificada disponível aos agricultores brasileiros que foi desenvolvida no Brasil. A aprovação resulta de 13 anos de cooperação bem-sucedida entre a Embrapa, o instituto público de pesquisas agrícolas do Brasil e a BASF, líder mundial no fornecimento de soluções agrícolas. O Sistema de Produção Cultivance® combina variedades de soja geneticamente modificadas com uma classe de herbicidas imidazolinonas de amplo espectro da BASF, adaptados às condições regionais. Essa tecnologia de tolerância a herbicidas fornece aos agricultores um novo sistema de controle que combate eficazmente um amplo espectro de ervas daninhas. Concebidos para aplicação após o plantio, os herbicidas Cultivance proporcionam aos agricultores a flexibilidade para aplicar o herbicida, quando necessário, para controlar as ervas daninhas durante as primeiras semanas cruciais para o crescimento das culturas. Uma única aplicação proporciona controle de plantas daninhas de folhas largas e gramíneas, inclusive as mais difíceis de controlar, durante o período da cultura. Os agricultores também terão vantagens logísticas e ambientais. Com menos aplicações de herbicidas por hectare, o uso de máquinas e mão de obra diminui, reduzindo os custos para os produtores e a redução da emissão de CO₂ equivalente no ambiente. Há um interesse significativo de outros países vizinhos na América Latina, inclusive Argentina, Bolívia e Paraguai, bem como de países em outros continentes, no desenvolvimento dessa tecnologia para suas variedades de soja. As empresas estão trabalhando para atender às exigências das entidades reguladoras desses países, onde a aprovação pode ser obtida dois anos depois do Brasil. A BASF e a Embrapa acreditam que a biotecnologia vegetal é fundamental para oferecer soluções inovadoras aos agricultores no século XXI, o que permitirá a intensificação sustentável da agricultura em nível mundial e contribuirá para a duplicação da produção de grãos requerida para 2040.

1.2. Impacto ambiental potencial da redução das emissões de CO₂ resultante da introdução da soja Cultivance e de seu herbicida Cultivance no setor brasileiro de soja

Colaboração: Embrapa (Brasil)/BASF (Alemanha-Brasil)/PG Economics (Reino Unido)

O possível impacto ambiental da introdução de uma nova variedade de soja geneticamente modificada e tolerante a herbicidas (GM HT) (conhecida como Cultivance, herbicidas da classe das imidazolinonas) no setor brasileiro de soja foi avaliado.

Impacto sobre emissões de gases de efeito estufa: A adoção de culturas biotecnológicas propiciará uma redução das emissões de gases de efeito estufa (GEE). Essa redução decorrerá do menor uso de combustível (devido às aplicações menos frequentes de herbicidas e inseticidas e à queda do consumo de energia para cultivo do solo). Além disso, a facilitação de sistemas de produção com preparo da terra mínimo ou nulo, propiciada pela soja transgênica (particularmente no caso da soja), resultará em menos aração e redução de emissão de CO₂ equivalente na atmosfera. Nesta análise, portanto, presume-se que qualquer redução nas emissões de GEE identificada a partir da adoção de características transgênicas seja atribuível exclusivamente às economias no uso de combustíveis derivadas e da menor incidência de pulverização com herbicidas. O impacto potencial da adoção da soja Cultivance no Brasil resultará em uma queda no número médio de pulverizações com herbicida (duas para Cultivance em comparação com 2,5 para a soja GM HT (tolerante a glifosato) existente e três para a soja convencional). Isto sugere que cada hectare de Cultivance propiciará uma economia potencial de 1,045 litro de combustível (2,87 kg/ha de dióxido de carbono) em relação à soja convencional e de 0,5225 litro de combustível (1,435 kg/ha de dióxido de carbono) em relação à soja GM HT (tolerante a glifosato). A economia anual potencial de combustível a partir da adoção da soja Cultivance dependerá do nível de adoção e uso dessas sementes de soja para substituir a soja convencional ou a soja GM HT (tolerante a glifosato). Usando três cenários possíveis com níveis de adoção entre 10% e 30% da participação no mercado, a economia anual potencial de combustível associada à adoção da soja Cultivance varia de 1,2 milhões de litros a 7,24 milhões de litros. A economia anual potencial de dióxido de carbono variará de 3,11 a 19,9 milhões de kg. Isto corresponde aos benefícios adicionais de economia de carbono associados ao uso de uma única modalidade tecnológica de semente transgênica de soja e soma-se às economias de carbono já propiciadas pelo menor uso de combustível associado à adoção da soja GM HT (tolerante a glifosato) nos últimos anos.

Mudanças no uso de herbicidas e impactos ambientais associados: O impacto ambiental associado ao uso de herbicidas na cultura da soja também será influenciado pela adoção da soja Cultivance. Os estudos da soja Cultivance indicam que o uso provável de herbicidas e o perfil ambiental associado serão os seguintes: com relação ao uso atual de herbicidas na soja

convencional, a adoção da soja Cultivance provavelmente resultará em uma redução líquida de 0,27 kg/ha no uso do ingrediente ativo do herbicida e uma redução de 3,82 unidades EIQ/ha de campo no impacto ambiental associado (medido pelo indicador EIQ). Em comparação com o uso atual de herbicidas na soja GM HT (tolerante a glifosato), a adoção da soja Cultivance provavelmente resultará em uma redução líquida de 0,9 kg/ha no uso do ingrediente ativo do herbicida e uma redução líquida de 12,77 unidades EIQ/ha no impacto ambiental associado. Usando os mesmos três cenários possíveis descritos acima, com níveis de adoção entre 10% e 30% da participação no mercado, as reduções potenciais no uso do ingrediente ativo associadas à adoção da soja Cultivance variam de 0,64 a 6,23 milhões de kg. Isso corresponde a uma redução de 1,3% a 12,9% no uso total anual do ingrediente ativo do herbicida no cultivo brasileiro de soja. O benefício ambiental anual (medido pelo indicador EIQ) associado à mudança no padrão de uso de herbicida poderá ser uma redução de 1,2% a 12% na quantidade total de EIQ/ha resultante do cultivo da soja (a extremidade menor do espectro pressupõe que todo o uso de Cultivance substituirá a soja convencional e a extremidade superior que todo o uso de Cultivance substituirá a soja GM HT, tolerante a glifosato).

1.3. Agricultura molecular e biologia sintética: produção de proteínas recombinantes de alto valor direcionadas para os setores farmacêutico e industrial

Colaboração: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia; Universidade de Brasília; Universidade de Queensland, Austrália; USP, FMRP; Waters Corporation, EUA/Brasil; National Cancer Institute em Frederick, NIH, EUA; Universidade de Wyoming, EUA; Ludwig Institute for Cancer Research Ltd, EUA;

Produção de proteínas recombinantes em sementes de soja sob o controle de sequências regulatórias de proteínas de armazenamento de leguminosas

A soja supre boa parte da demanda mundial de óleo vegetal e proteínas e também desempenha um papel importante no desenvolvimento da biologia molecular vegetal. As proteínas de armazenamento das sementes da planta são de grande interesse para o desenvolvimento de produtos de interesse comercial através da tecnologia de DNA recombinante. As duas principais proteínas de armazenamento em sementes de feijão e soja são multiméricas e foram caracterizadas bioquimicamente. As proteínas γS de muitas leguminosas consistem em combinações subunitárias que resultam em uma massa molecular de aproximadamente 150-220 kDa. As globulinas γS são compostas de subunidades de β -conglícinina e β -faseolina. As subunidades proteicas individuais variam de tamanho dentro de uma mesma espécie e entre espécies. Essas proteínas respondem por aproximadamente 50% a 70% do total de proteínas. As sequências regulatórias

de β -conglucina e β -faseolina são específicas do tecido da semente, reguladas temporalmente e expressas tanto no eixo embrionário como nos cotilédones das sementes em desenvolvimento. Sequências de codificação do *hormônio de crescimento humano*; *fator de coagulação humana IX*; *ScFv CD-18* (anticorpo); *Masp2-spider* (proteína sintética para a produção de biopolímeros); *cianovirina*, *grifitsina* (microbicidas); genes de *CTAG*, *GAGE-1* e *PLAC1* (antígenos tumorais) foram clonados sob o controle de diferentes promotores e peptídeos sinal. Usando transformação mediada por biobalística, cada gene foi introduzido no genoma da soja e plantas transgênicas foram obtidas. A presença de sequências codificantes introduzidas foi confirmada por análise molecular. Ensaios bioquímicos foram realizados para detectar a expressão e/ou bioatividade das proteínas recombinantes. Ensaios imunocitoquímicos ultraestruturais mostraram que as proteínas recombinantes acumulavam-se nos vacúolos de armazenamento de proteínas (VAP) derivados do retículo endoplasmático (RE). Moléculas recombinantes foram visualizadas ao longo de todo o lúmen cisternal, mas estavam ausentes no interior dos corpos oleosos da semente. Foram realizados experimentos sobre a utilização de um fracionamento nano-UPLC e Espectrometria de Massa de Alta Definição (HDMS) Sináptica visando o desenvolvimento de um sistema de modo positivo nanoESI para realizar uma caracterização de proteínas recombinantes em algumas sementes com Identidade. A exploração da utilização de sequências regulatórias específicas da semente capazes de orientar e acumular proteínas recombinantes nos VAP de sementes de soja, associada às ferramentas recentes de pesquisa biológica, tem grande potencial para acelerar a caracterização preliminar de biofármacos derivados de plantas e macromoléculas industriais. Utilizando a biologia sintética, a manipulação de rotas metabólicas em sementes de soja e tabaco tem sido realizadas com objetivo de desenvolver sementes “humanizadas” capazes de produzir proteínas recombinantes em grande quantidade e proteínas sintéticas.

1.4. Tecnologia de DNA recombinante e biologia sintética como opção viável para a prospecção e uso sustentável da biodiversidade

A bacia amazônica é uma área de megabiodiversidade. Diferentes modelos têm sido propostos para a criação de uma política de conservação eficaz, aumento da sustentabilidade e agregação de valor à biodiversidade. Ao longo dos anos, a região amazônica tem permanecido associada a um círculo vicioso de desmatamento e nível de emprego declinante. Há uma hipótese que vincula a redução do desmatamento e aumento da governança ao aumento do emprego e da renda associado ao desenvolvimento de vários processos e produtos, no que tem sido descrito como um círculo virtuoso de desenvolvimento. A geração de créditos de carbono também tem sido sugerida como uma estratégia de desenvolvimento viável para a região. Além disso, foi demonstrado que as recentes perdas significativas de florestas e o aumento da renda podem estar ligados principalmente à expansão dos setores da pecuária e plantio da soja. O valor real da biodiversidade permanece desconhecido e as estimativas são especulativas. Estudos baseados

em evidências na região amazônica devem ser realizados com urgência e intensificados. Esses estudos devem ser baseados na avaliação e no desenvolvimento potencial de produtos de alto valor agregado. Isso, por sua vez, depende de tecnologias operacionais e avançadas. Atualmente, há um amplo espectro de tecnologias de DNA recombinante disponíveis que permitem a coleta, manipulação e avaliação efetiva de inúmeras moléculas que existem como produtos de um ecossistema vasto e biodiversificado. Recentemente, um ciclo geral de desenvolvimento foi proposto para os produtos biotecnológicos associados ao agronegócio. Basicamente, o ciclo de desenvolvimento estabelece a nomenclatura adequada e enumera as fases interativas envolvidas, desde a prospecção de moléculas candidatas até sua caracterização, análise e regulamentação. Foram previstos os possíveis comportamentos de dependência dos valores associados em função do tempo por um período arbitrário ao longo do tempo. Em condições ideais, o ganho de conhecimentos resultante dos estudos em andamento produzirá uma diminuição do risco de falha do produto e, conseqüentemente, um aumento dos valores econômicos associados e esperados. Entretanto, em uma situação real, os problemas encontrados durante a pesquisa podem inviabilizar a exploração dos recursos naturais. Portanto, a situação inversa, na qual o valor diminui ao longo do tempo, também pode ocorrer. O desenvolvimento de produtos baseados na ciência avançada está diretamente relacionado à utilização intensiva do conhecimento e de elevados padrões tecnológicos. Isso indica que a utilização da tecnologia do DNA recombinante em seu sentido pleno constitui uma opção viável e uma ferramenta indispensável e útil para orientar o uso sustentável e o desenvolvimento de produtos de alto valor agregado. Isso não se limita apenas à duplicação prevista da demanda mundial de produção de alimentos nos próximos 30 anos, mas também fornece uma ferramenta para a avaliação sustentável da biodiversidade. O uso da tecnologia do DNA recombinante, desde o genoma até as fases de regulação, implica a coleta de alguns organismos (ou partes deles) como fonte de matéria-prima genética que permita prospecção, caracterização, expressão gênica, estudos de prova de conceito (pesquisas para demonstrar a eficácia funcional de uma característica ou tecnologia no organismo alvo para reduzir o risco de falha do produto) e produção de novas moléculas. É fornecido a seguir outro exemplo que descreve uma das várias possibilidades positivas estudadas. A seda da aranha tem sido notada por suas extraordinárias propriedades físicas e mecânicas, tendo sido reconhecida recentemente como um nanomaterial à base de proteínas. Ela tem a capacidade de se auto-organizar em fibras constituídas de folhas beta antiparalelas há mais de 450 milhões de anos. As sedas de aranha são biopolímeros à base de proteínas secretados por células epiteliais especializadas como precursores concentrados solúveis dos blocos de construção repetitivos de estruturas proteicas primárias. Esses biopolímeros são altamente flexíveis e exibem força e resistência extraordinárias, comparáveis às das fibras sintéticas de alto desempenho como o Kevlar. Apesar do alto potencial decorrente das características mecânicas da seda de aranha, a impossibilidade de domesticar aranhas para produzir fibras em quantidades suficientes levou ao desenvolvimento de estratégias alternativas para a produção de proteínas da seda usando

a tecnologia do DNA recombinante. Realizamos o genoma funcional das glândulas de seda da aranha brasileira, que estuda a evolução em nível molecular com o objetivo de desenvolver novos biopolímeros. A possibilidade de produzir novos materiais biodegradáveis com propriedades semelhantes motivou o aumento das pesquisas sobre as proteínas sintéticas da seda. Usando marcadores da sequência de expressão, foram identificadas diferentes sequências codificantes e regulatórias produzidas pelas glândulas de seda ampolada maior, menor, flageliforme e tubuliforme das aranhas. As aranhas *Nephilengys cruentata*, *Avicularia juruensis* e *Parawixia bistrriata* foram coletadas e prospectadas nos biomas brasileiros. Com base em dados do genoma e do transcriptoma, conseguimos produzir fibras sintéticas semelhantes à da aranha. Diferentes sistemas de expressão, tais como bactérias, fermento, plantas e animais estão sendo avaliados para definir o sistema mais adequado para produzir proteínas sintéticas semelhantes à da aranha em larga escala ao menor custo. Demonstramos a produção de proteínas sintéticas que podem formar fibras semelhantes à da aranha em bactérias e sementes de soja. Espera-se que, além do potencial de desenvolvimento de biomateriais inovadores e de alto valor agregado, esse trabalho também possa ser usado como um modelo compatível com o padrão proposto, descrito anteriormente. Além dos esforços para conservar a biodiversidade, é necessário um método eficaz, baseado em evidências, para estimar o valor da biodiversidade. O uso da tecnologia do DNA recombinante e biologia sintética poderá constituir uma ferramenta importante e uma opção viável para a avaliação da biodiversidade na forma proposta, além de ser útil para o desenvolvimento de métodos de uso sustentável e produção de novas moléculas. A biotecnologia está enquadrada na opção do círculo virtuoso. Em vista da urgência e da importância estratégica deste tema, a avaliação operacional aqui descrita deve ser associada ao estabelecimento de parcerias entre os setores público e privado, bem como às interações necessárias com os países desenvolvidos e em desenvolvimento.

Referências

- ARAGÃO F, BARROS L, BRASILEIRO A, RIBEIRO S, SMITH F, SANFORD J, FARIA J, RECH E (1996) *Inheritance of foreign genes in transgenic bean (Phaseolus vulgaris L.) co-transformed via particle bombardment*. Theoretical and Applied Genetics 93:142-150
- ARAGÃO F, SAROKIN L, VIANNA G, RECH E (2000) *Selection of transgenic meristematic cells utilizing a herbicidal molecule results in the recovery of fertile transgenic soybean [Glycine max (L.) Merrill] plants at a high frequency*. Theoretical and Applied Genetics 101:1-6
- ASH C, JASNY B, MALAKOFF D, SUGDEN A (2010). *Feeding the future*. Science 327:797
- BAULCOMBE D. (2010). *Reaping the benefits of crop research*. Science 327:761.
- BARRETT C., KIM TY, KIM UK, PALSSON B, LEE SY (2006) *Systems biology as a foundation for genome-scale synthetic biology* (2006). Current Opinion in Biotechnology 17:488-492
- ENDY D (2005) *Foundations for engineering biology*. Nature 449:453
- GIBSON D, GLASS J, LARTIGUE C, NOSKOV V, CHUANG RA, ALGIRE M, BENDERS G, MONTAGUE M, MA L, MOODIE M, MERRYMAN C, VASHEE S, KRISHNAKUMAR R, GARCIA N, ANDREWS-PFANNKOCH C, DENISOVA E, YOUNG L, QI Z, SEGALL-SHAPIRO T, CALVEY C, PARMAR P, HUTCHISON III C, SMITH O, VENTER J (2010). *Creation of a Bacterial Cell Controlled by a Chemically Synthesized Genome*. Science DOI: 10.1126/science.1190719
- GEBBERS R, ADAMCHUCK I (2010). *Precision agriculture and food security*. Science 327: 828-829.
- KOSSIANKOFF A, KOIDE S (2008) *Understanding mechanisms governing protein-protein interactions from synthetic binding interfaces*. Current Opinion in Biotechnology 18:499-506
- Reaping the benefits: science and the sustainable intensification of global agriculture* (2009). The Royal Society. ISBN: 978-0-85403-784-1. 74 p. (www.royalsociety.org).
- RECH E, VIANNA G, ARAGÃO F (2008) *High-efficiency transformation by biolistics of soybean, common bean and cotton transgenic plants*. Nature Protocols 3:410-418
- Teulé F, Cooper A, Furin A, Bittencourt D, Rech E, Brooks A, Lewis R (2009) *protocol for the production of recombinant spider silk-like proteins for artificial fiber spinning*. Nature Protocols 4:341-355
- WEBER W, FUSSENEGER M (2009) *The impact of synthetic biology on drug discovery*. Drug discovery 14:956-963