



# Biologia sintética em perspectiva dual: Conquistas e ameaças à saúde global

**Marcos Dornelas Ribeiro – Maj Farm**

*MSc, PhD Ciências Microbiológicas*

*– Pesquisador Senior do Instituto de Biologia do Exército*

*Membro da Comissão de Biossegurança MD - CBioMD*

*Membro Comissão Técnica Nacional de Biossegurança – CTNBio (2011-2017)*

**INSTITUTO DE BIOLOGIA DO EXÉRCITO**



# Biologia Sintética

“A biologia sintética consiste na aplicação dos princípios de engenharia à biologia.”

Conselho Consultivo das Academias Europeias de Ciências



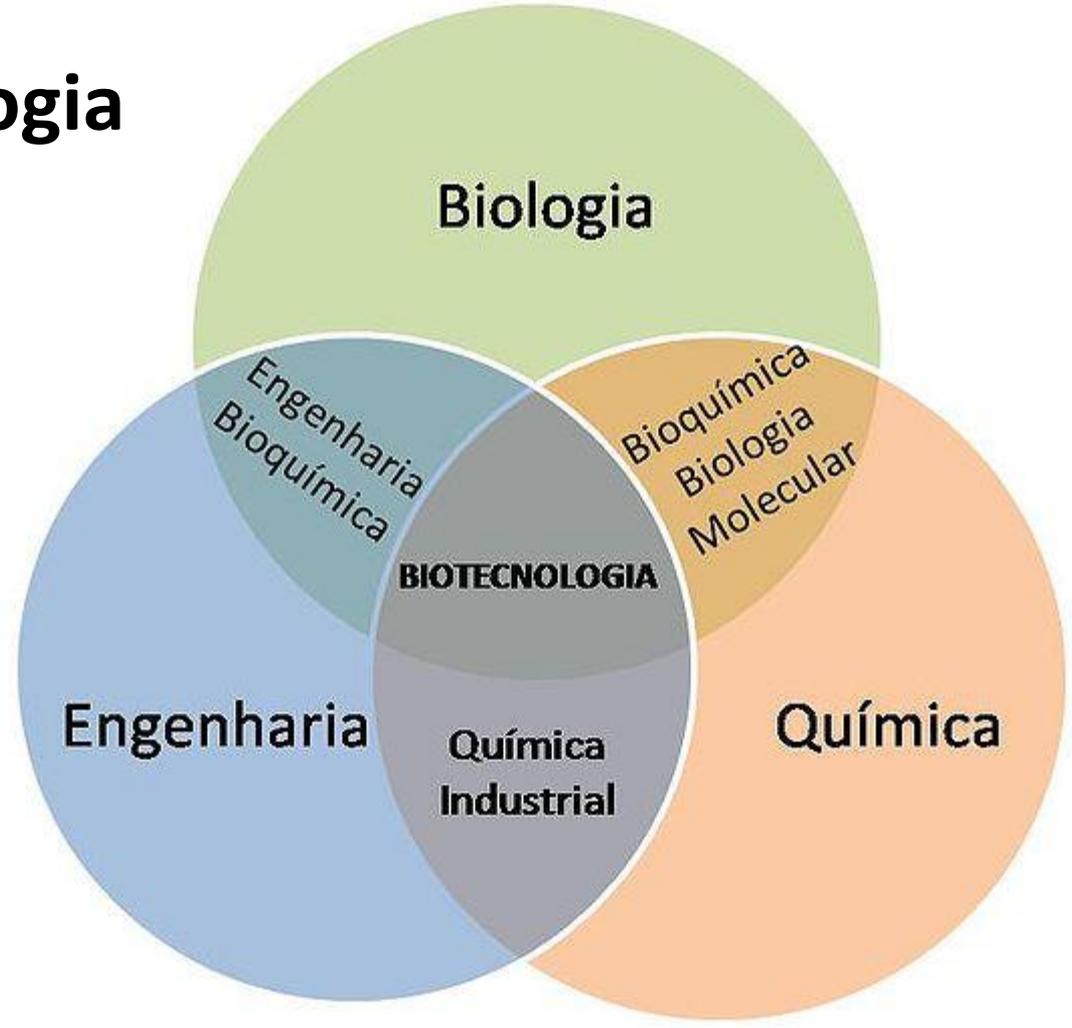
# Biologia Sintética

- A biologia sintética tem sido estudada para aplicações em desenho artificial, engenharia de sistemas biológicos e organismos vivos, com propósito de realizar novas tarefas na indústria e pesquisa biológica.
- Visa o desenho, construção e caracterização de novos circuitos regulatórios através da utilização de partes biológicas e modelos computacionais com o objetivo de redesenhar microrganismos para aplicações biotecnológicas.

[«Biologia Sistêmica e Sintética | BioCel - Biologia Celular e Molecular». rbp.fmrp.usp.br.](http://rbp.fmrp.usp.br)

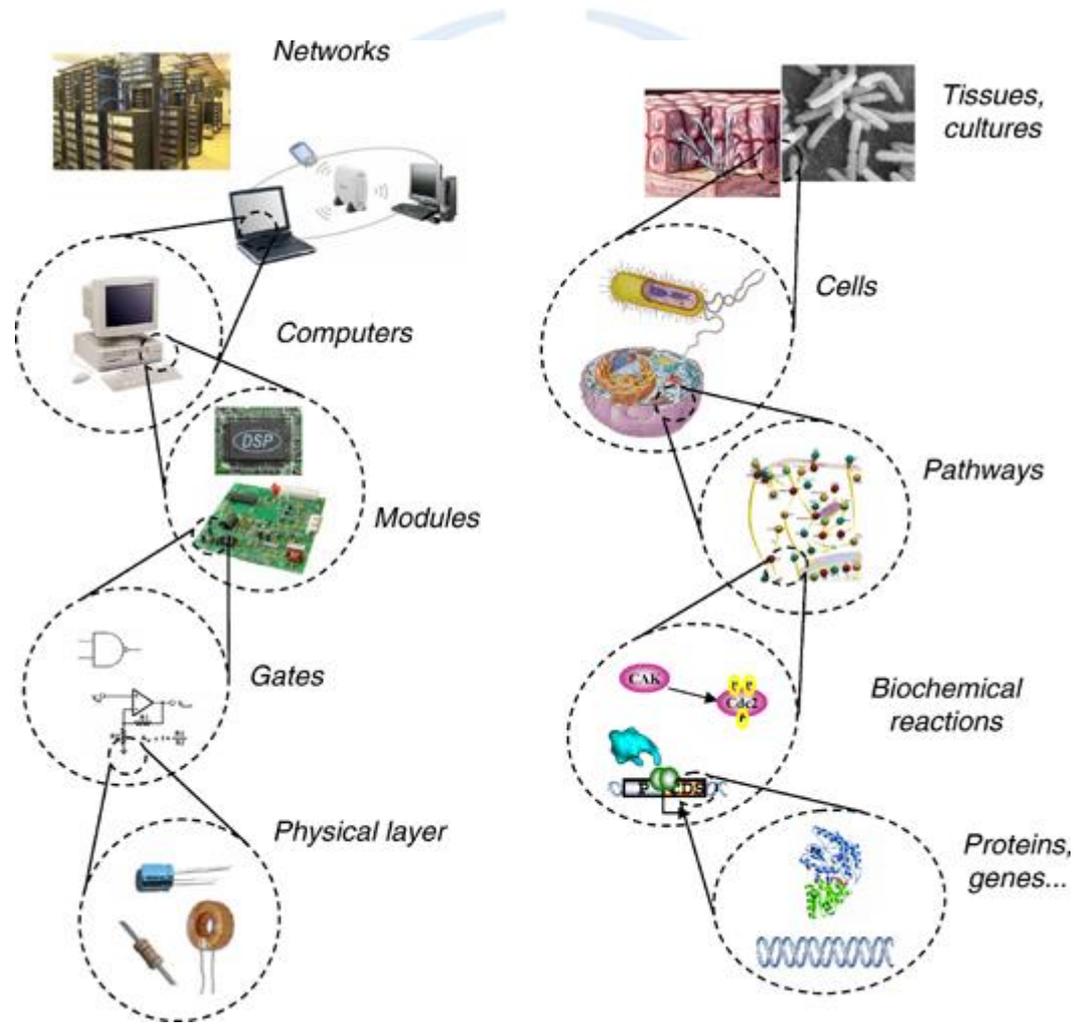


# Biotecnologia





# Biologia Sintética



A biologia sintética procura entender a célula como um circuito eletrônico



# Histórico

- O primeiro uso do termo "biologia sintética" foi com a publicação do artigo *Théorie physico-chimique de la vie et générations spontanées* (1910) e em 1912 em *La Biologie Synthétique*.
- Em 1978 o Nobel de Medicina foi concedido a *Werner Arber, Daniel Nathans e Hamilton O. Smith* pela descoberta da **enzima de restrição** e sua aplicação aos problemas de **genética molecular**.



# Histórico

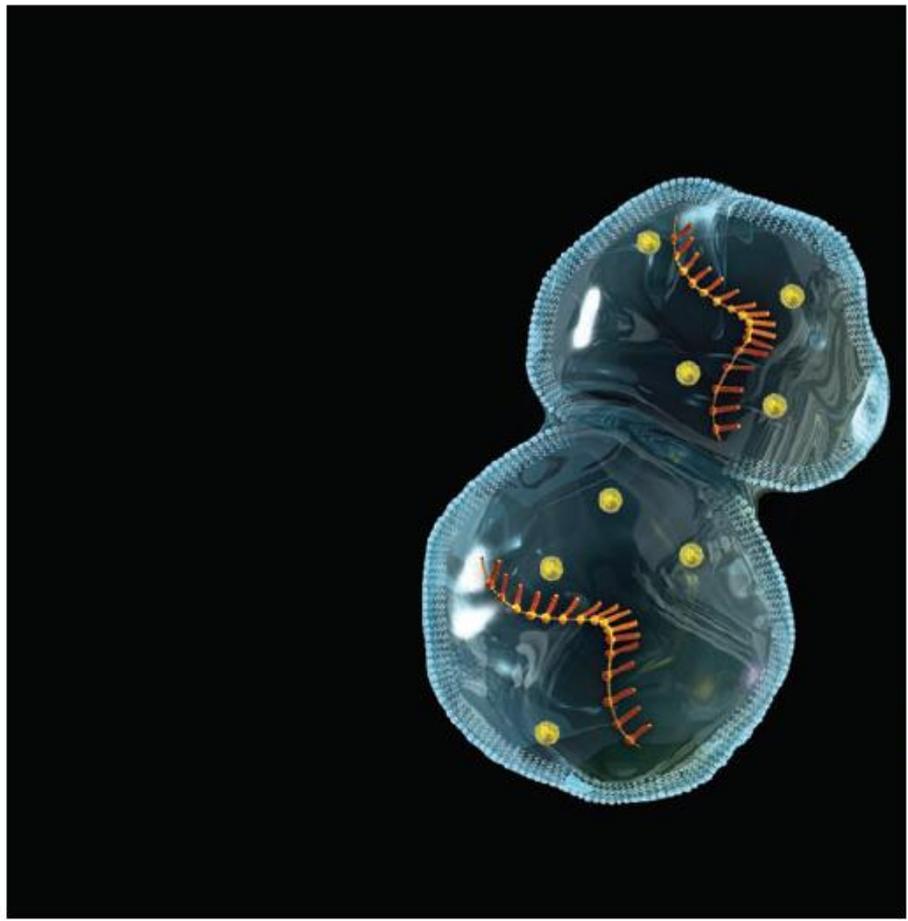
- 2010 – Criação de célula artificial.
- 2010 – Criação de vírus artificial.
- 2017 – Construção do Horsepox virus
- *"O trabalho em nucleases de restrição não somente permite-nos construir facilmente moléculas de DNA recombinante e analisar genes individuais, mas também nos leva para a nova era da biologia sintética, onde não somente genes existentes são descritos e analisados, mas também novos arranjos de genes podem ser construídos e avaliados"*

Waclaw Szybalski



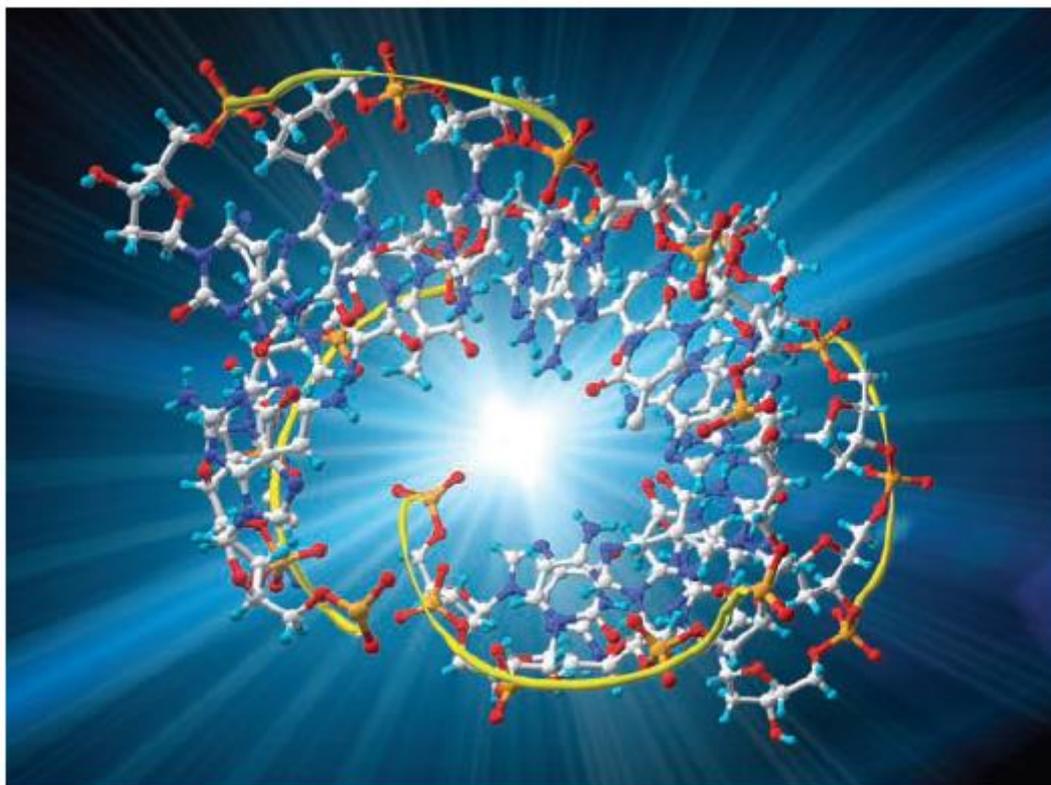
Cedência de: Thomas Deerinck, NCMIR/Science Photo Library

Micoplasma sintético observado em microscopia de varredura.



Cedência de: Henning Dalhoff / Bonnier Publications / Science Photo Library

Célula artificial em divisão, originando duas células filhas.



Cedência de: Pasiaka / Science Photo Library

Desenho computacional de ácido triose nucleico (TNA), molécula sintética semelhante estruturalmente ao DNA e RNA.



# Conquistas para a Saúde Global

- **Energia**
  - ✓ Microrganismos desenhados especificamente para produzir hidrogênio e outros combustíveis ou capazes de fazer fotossíntese artificial.
- **Medicina**
  - ✓ A produção de medicamentos, vacinas e agentes de diagnóstico e a produção de novos tecidos.
- **Ambiente**
  - ✓ A detecção de poluentes e a sua degradação ou remoção do ambiente
- **Indústria química**
  - ✓ A produção de compostos a granel ou de compostos de química fina, incluindo proteínas, capazes de constituir uma alternativa às fibras naturais ou às fibras sintéticas existentes
- **Agricultura**
  - ✓ Novos aditivos alimentares

# Pesquisas com Direcionamento Genético – Gene Drive

- **Saúde Pública**
- Controlar ou alterar organismos que carregam, causam ou servem de reservatórios para doenças em humanos.



*Aedes aegypti*

Image Source: US Centers for Disease Control and Prevention

# Pesquisas com Direcionamento Genético – Gene Drive

- **Agricultura**
- Controlar ou alterar organismos que prejudicam as culturas ou transportam doenças das culturas.
- Eliminar plantas daninhas que competem com culturas cultivadas



**Fruit damage from spotted wing drosophila infestation**

Image Source: US Department of Agriculture



# Pesquisas com Direcionamento Genético – Gene Drive

- **Pesquisa Básica**
- Alterar o modelo para realizar pesquisas sobre a função e os efeitos dos genes, a biologia das espécies e os mecanismos da doença.



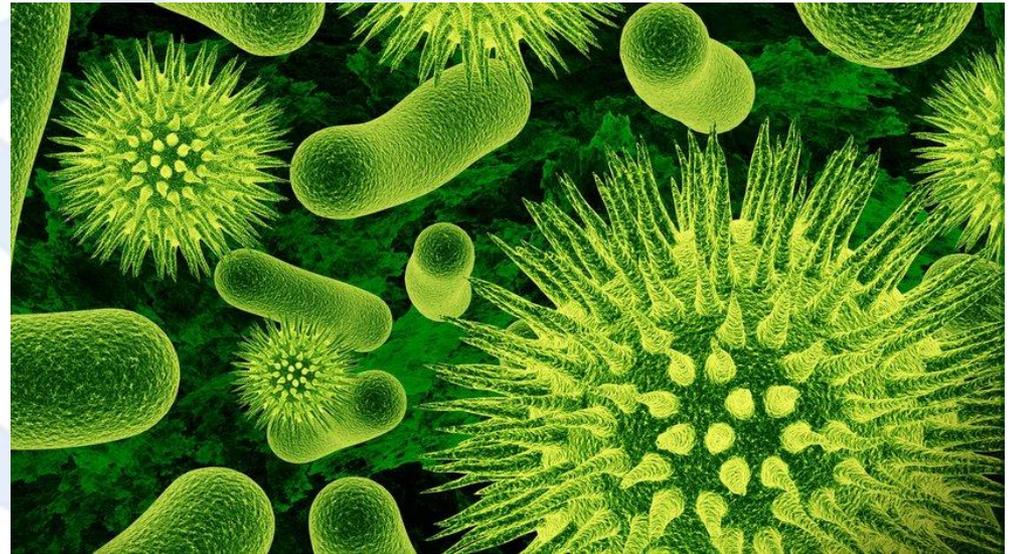
**DNA Double Helix**

Image Source: National Institutes of Health



# Bio-sensores

- Sensores para detecção de agentes biológicos de guerra.





# Tecnologias de Uso Dual

“Bens de dupla utilização são produtos e tecnologias normalmente usadas para fins civis mas que também podem ter aplicações **militares.**”

European Commission, Trade Topics, Dual Use



- **Tecnologia de dupla utilização**, no contexto político e diplomático, são os bens que podem ser utilizados para fins pacíficos ou **militares**.
- De forma geral, dupla utilização pode referir-se a qualquer tecnologia que satisfaça mais de uma proposta a qualquer momento.



# Diretrizes de Biossegurança, Bioproteção e Defesa Biológica do Ministério da Defesa

- As Diretrizes de Biossegurança, Bioproteção e Defesa Biológica do Ministério da Defesa têm por finalidade orientar o preparo e o emprego das **Forças Armadas** no **planejamento e desenvolvimento de ações de biossegurança, bioproteção e de defesa biológica**, de modo a fortalecer as capacidades nacionais de resposta às ameaças de natureza biológica e assegurar o cumprimento dos interesses da Defesa Nacional.



# Agente Biológico

- É todo aquele que contenha informação genética e seja capaz de autorreprodução ou de se reproduzir em um sistema biológico. Inclui bactérias, fungos, vírus, clamídias, riquetsias, micoplasmas, príons, parasitos, linhagens celulares e outros organismos.

Classificação de Risco dos **Agentes Biológicos** – MS, 2017

PORTARIA NORMATIVA Nº 585/MD, DE 7 DE MARÇO DE 2013



# Bioconfiança (*biosurety*)

- É o conjunto de sistemas e procedimentos para salvaguardar os agentes biológicos e toxinas contra furto, roubo, perda, desvio, acesso ou uso não autorizado, e garantir que todas essas ações sejam conduzidas de maneira segura e confiável, englobando nesse conceito a **biossegurança**, a **bioproteção** e **os controles de pessoal e material**.



# Bioproteção (*biosecurity*)

- É o conjunto de ações que visam a minimizar o risco do uso indevido, roubo e/ou a **liberação intencional** de material com potencial risco à saúde humana, animal e vegetal.



# Biossegurança (*biosafety*)

- É o conjunto de ações destinadas a prevenir, controlar, reduzir ou eliminar riscos inerentes às atividades que possam, de forma **não intencional**, comprometer a saúde humana, animal, vegetal e o ambiente.



# Defesa Biológica:

- É o conjunto de medidas estruturadas a serem implementadas pelas Forças Armadas para prevenir e enfrentar ataques por agentes biológicos ou tóxicos.

PORTARIA NORMATIVA Nº 585/MD, DE 7 DE MARÇO DE 2013



# Organismo Geneticamente Modificado - OGM

- Organismo cujo material genético tenha sido modificado por qualquer técnica de engenharia genética.



# Patrimônio Genético

- É informação de origem genética, contida em amostras do todo ou de parte de espécime vegetal, fúngica, microbiana ou animal, na forma de moléculas e substâncias provenientes do metabolismo destes seres vivos e de extratos obtidos destes organismos vivos ou mortos, encontrados em condições *in situ*, inclusive domesticados, ou mantidos em coleções *ex situ*, desde que coletados em condições *in situ* no território nacional, na plataforma continental ou na zona econômica exclusiva.

# BIO•TERRORISMO

- Consiste no uso de agentes biológicos em ataques terroristas, provocando doenças e mortes em humanos, animais e plantas e principalmente abalo social.

despoblación  
CANCER





## COMISSÃO TÉCNICA NACIONAL DE BIOSSEGURANÇA – CTNBio

- **Resolução Normativa Nº 16, de 15 de janeiro de 2018**
- Técnicas Inovadoras de Melhoramento de Precisão (TIMP)
- Precision Breeding Innovation (PBI)
- New Breeding Technologies -NBTs



# Técnicas Inovadoras de Melhoramento de Precisão (TIMP)

1. TÉCNICA: Florescimento Precoce.
2. TÉCNICA: Tecnologia para Produção de Sementes.
3. TÉCNICA: Melhoramento Reverso.
4. TÉCNICA: Metilação do DNA Dependente do RNA.
5. TÉCNICA: Mutagênese Sítio Dirigida.
6. TÉCNICA: Mutagênese Direcionada por Oligonucleotídeo.
7. TÉCNICA: Agroinfiltração/Agroinfecção.
8. TÉCNICA: RNAi uso tópico/sistêmico.
9. TÉCNICA: Vetor Viral.



# Ameaças para a Saúde Global

- *Que tipo de ameaça pode haver com o uso de biologia sintética ?*



# Ameaças para a Saúde Global

- **Energia**
  - ✓ **Microrganismos desenhados** especificamente para produzir hidrogênio e outros combustíveis ou capazes de fazer fotossíntese artificial.
- **Medicina**
  - ✓ A produção de medicamentos, **vacinas** e **agentes de diagnóstico** e a produção de novos tecidos.
- **Ambiente**
  - ✓ A detecção de poluentes e a sua **degradação** ou remoção do ambiente
- **Indústria química**
  - ✓ A produção de compostos a granel ou de **compostos de química fina**, incluindo **proteínas**, capazes de constituir uma alternativa às fibras naturais ou às fibras sintéticas existentes
- **Agricultura**
  - ✓ Novos aditivos alimentares

# Conquista ou Ameaça para a Saúde Global ?

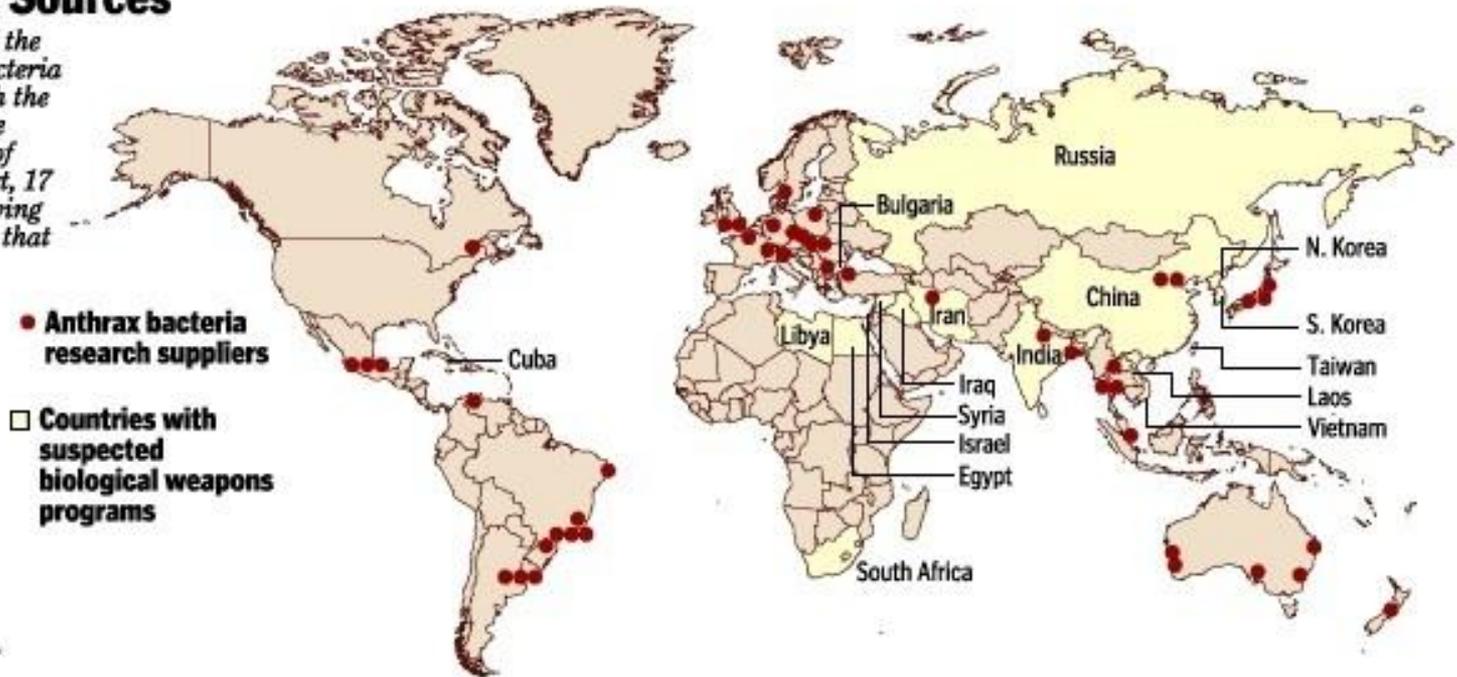
- *Genetically Engineered Salmon*



# Ameaças para a Saúde Global

## Possible Anthrax Sources

Forty-six germ banks around the world that supply anthrax bacteria for researchers are listed with the World Federation for Culture Collections. In a 1993 Office of Technology Assessment report, 17 nations were suspected of having biological weapons programs that could include anthrax.



SOURCES:  
Office of Technology Assessment,  
World Federation for Culture Collections,  
Associated Press

<http://www.madrimasd.org/blogs/microbiologia/2008/08/02/98072>

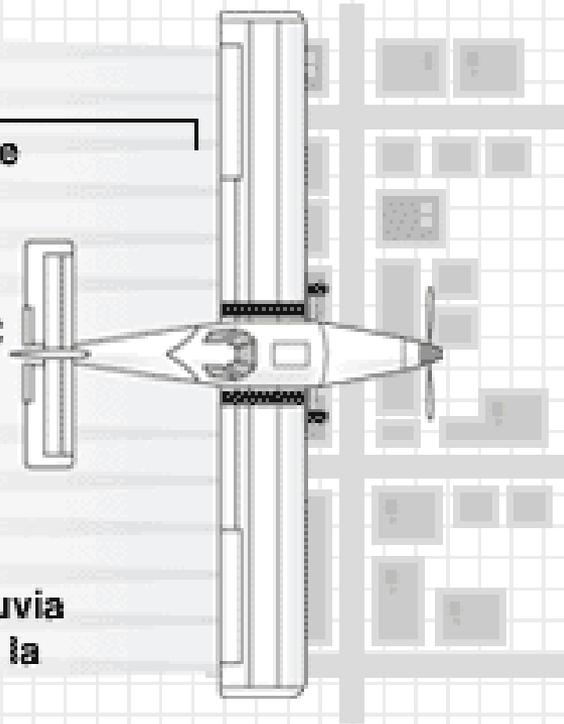
THE WASHINGTON POST

# Ameaças para a Saúde Global

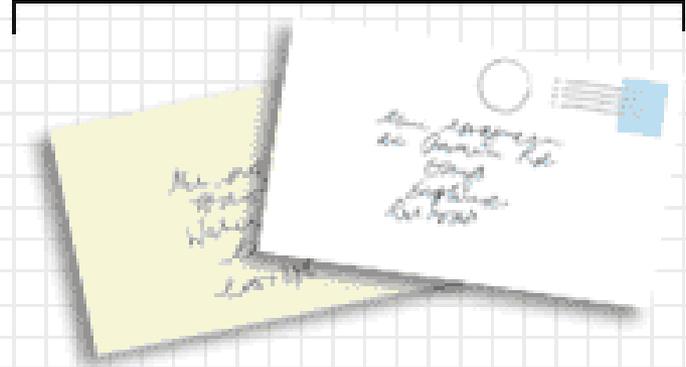
## ESPARCIENDO EL ÁNTRAX

### Por avión

- Teoría: 100kg de ántrax esparcidos sobre Washington DC podría matar entre 130,000 y 3 millones de personas
- El viento y la lluvia podrían afectar la distribución de las esporas



### En la carta



- Realidad: Las esporas del ántrax, presentes en las cartas, se liberan al abrirse los sobres.
- Una forma barata de causar pánico, pero las esporas deben ser aspiradas para que la enfermedad sea mortal.

# Ameaças para a Saúde Global



Imagem divulgada pelos Capacetes Brancos da Defesa Civil Síria, mostra uma criança sendo resgatada após um ataque de armas químicas na cidade de Douma, perto de Damasco, na Síria - 08/04/2018 (Syrian Civil Defense White Helmets/AP)



# Ameaças para a Saúde Global

- Construção gênica de um determinado agente biológico.
- Inserção de mecanismos de virulência
- Reconstrução do vírus da Influenza, responsável pela gripe Espanhola.
- Técnicas de melhoramento genético.



# Conquista ou Ameaça para a Saúde Global

Health Security

Volume 15, Number 5, 2017 © Mary Ann Liebert, Inc.

DOI: 10.1089/hs.2017.0061

## THE *DE NOVO* SYNTHESIS OF HORSEPOX VIRUS: IMPLICATIONS FOR BIOSECURITY AND RECOMMENDATIONS FOR PREVENTING THE REEMERGENCE OF SMALLPOX

---

Gregory D. Koblentz

---



# Conquista ou Ameaça para a Saúde Global



RESEARCH ARTICLE

## Construction of an infectious horsepox virus vaccine from chemically synthesized DNA fragments

Ryan S. Noyce<sup>1</sup>, Seth Lederman<sup>2</sup>, David H. Evans<sup>1\*</sup>

**1** Department of Medical Microbiology & Immunology and Li Ka Shing Institute of Virology, University of Alberta, Edmonton, Alberta, Canada, **2** Tonix Pharmaceuticals, Inc., New York, New York, United States of America

\* [devans@ualberta.ca](mailto:devans@ualberta.ca)



# Conclusão

- O uso das tecnologias para o mal é fruto da ação do Homem.
- É o homem na verdade, que através dos microrganismos e do uso do conhecimento mata outros homens.
- O homem é quem transforma em “terror” os microrganismos com sua manipulação insana.



*“Tudo quanto te vier a mão para fazer, faze-o conforme as tuas forças....”*

*Eclesiastes 9:10 primeira parte.*







# Classificação de Risco dos Agentes Biológicos

Os agentes biológicos que afetam o homem, os animais e as plantas são distribuídos em classes de risco assim definidas:

- **Classe de risco 1 (baixo risco individual e para a comunidade):** inclui os agentes biológicos conhecidos por não causarem doenças no homem ou nos animais adultos saudáveis. Exemplos: *Lactobacillus* sp. e *Bacillus subtilis*.
- **Classe de risco 2 (moderado risco individual e limitado risco para a comunidade):** inclui os agentes biológicos que provocam infecções no homem ou nos animais, cujo potencial de propagação na comunidade e de disseminação no meio ambiente é limitado, e para os quais existem medidas terapêuticas e profiláticas eficazes. Exemplos: *Schistosoma mansoni* e Vírus da Rubéola.



# Classificação de Risco dos Agentes Biológicos

- **Classe de risco 3 (alto risco individual e moderado risco para a comunidade):** inclui os agentes biológicos que possuem capacidade de transmissão por via respiratória e que causam patologias humanas ou animais, potencialmente letais, para as quais existem usualmente medidas de tratamento e/ou de prevenção. Representam risco se disseminados na comunidade e no meio ambiente, podendo se propagar de pessoa a pessoa. Exemplos: *Bacillus anthracis* e Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV).
- **Classe de risco 4 (alto risco individual e para a comunidade):** inclui os agentes biológicos com grande poder de transmissibilidade por via respiratória ou de transmissão desconhecida. Até o momento não há nenhuma medida profilática ou terapêutica eficaz contra infecções ocasionadas por estes. Causam doenças humanas e animais de alta gravidade, com alta capacidade de disseminação na comunidade e no meio ambiente. Esta classe inclui principalmente os vírus. Exemplos: Vírus Ebola e Vírus Lassa.



## **1. TÉCNICA: Florescimento Precoce.**

1.1 RESUMO DA TÉCNICA: Silenciamento e/ou super-expressão de genes relacionados ao florescimento através da inserção da modificação genética no genoma e posterior segregação ou através da expressão temporária por vetor viral.

## **2. TÉCNICA: Tecnologia para Produção de Sementes.**

2.1 RESUMO DA TÉCNICA: Inserção da modificação genética para restauração da fertilidade em linhagens naturalmente macho-estéreis a fim de multiplicar essas linhagens mantendo a condição de macho-esterilidade, sem haver, no entanto, transmissão da modificação genética para a descendência.

## **3. TÉCNICA: Melhoramento Reverso.**

3.1 RESUMO DA TÉCNICA: Inibição da recombinação meiótica em plantas heterozigotas selecionadas para a característica de interesse a fim de produzir linhagens parentais homozigotas.



#### **4. TÉCNICA: Metilação do DNA Dependente do RNA.**

4.1 RESUMO DA TÉCNICA: Metilação direcionada por RNAs interferentes ("RNAi") em regiões promotoras homólogas ao RNAi com o objetivo de inibir a transcrição do gene alvo em seres vivos.

#### **5. TÉCNICA: Mutagênese Sítio Dirigida.**

5.1 RESUMO DA TÉCNICA: Complexos proteicos ou riboproteicos capazes de causar mutagênese sítio dirigida em microrganismos, plantas, animais e células humanas.

#### **6. TÉCNICA: Mutagênese Direcionada por Oligonucleotídeo.**

6.1 RESUMO DA TÉCNICA: Introdução na célula de um oligonucleotídeo sintetizado de forma complementar à sequência alvo, contendo uma ou poucas alterações de nucleotídeos, que poderão causar substituição, inserção ou deleção na sequência alvo através do mecanismo de reparo celular (microrganismos, plantas, animais e células humanas).



## **7. TÉCNICA: Agroinfiltração/Agroinfecção.**

7.1 RESUMO DA TÉCNICA: Folhas (ou outro tecido somático) infiltrado com *Agrobacterium* sp. ou construções gênicas contendo o gene de interesse para obter uma expressão temporária em altos níveis localizada na área infiltrada ou com vetor viral para expressão sistêmica, sem que a modificação seja transmitida às gerações subsequentes.

## **8. TÉCNICA: RNAi uso tópico/sistêmico.**

8.1 RESUMO DA TÉCNICA: Uso de RNA fita dupla ("dsRNA") com sequência homóloga ao(s) gene(s) alvo para silenciamento específico desse(s) gene(s). As moléculas engenheiradas de dsRNA podem ser introduzidas/absorvidas pela célula a partir do ambiente.

## **9. TÉCNICA: Vetor Viral.**

9.1 RESUMO DA TÉCNICA: Inoculação de seres vivos com vírus recombinante (DNA ou RNA) expressando a modificação genética e amplificação do gene de interesse através dos mecanismos de replicação viral, sem que haja modificação do genoma do hospedeiro.