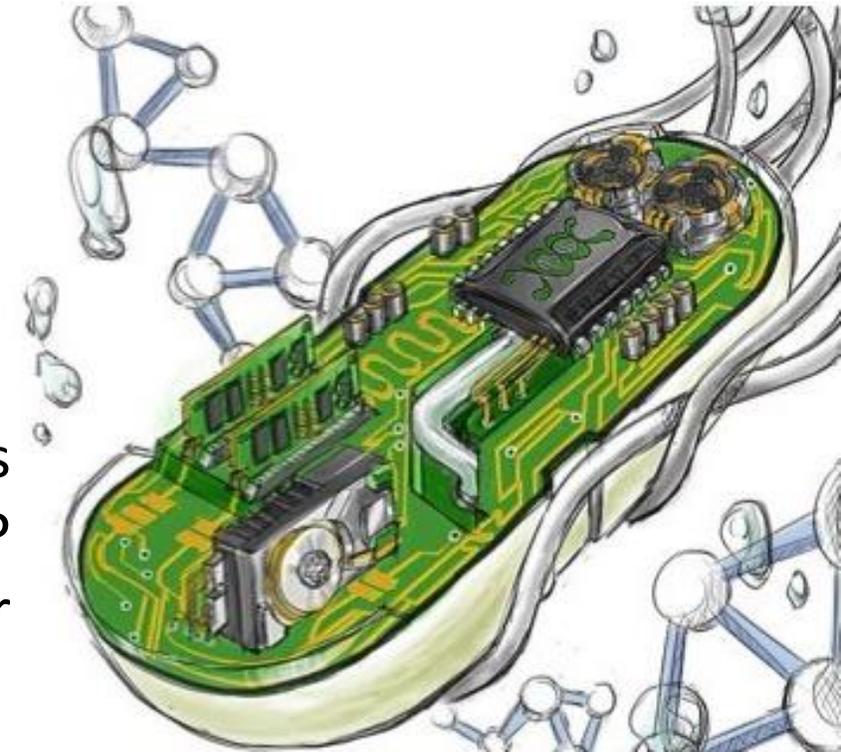


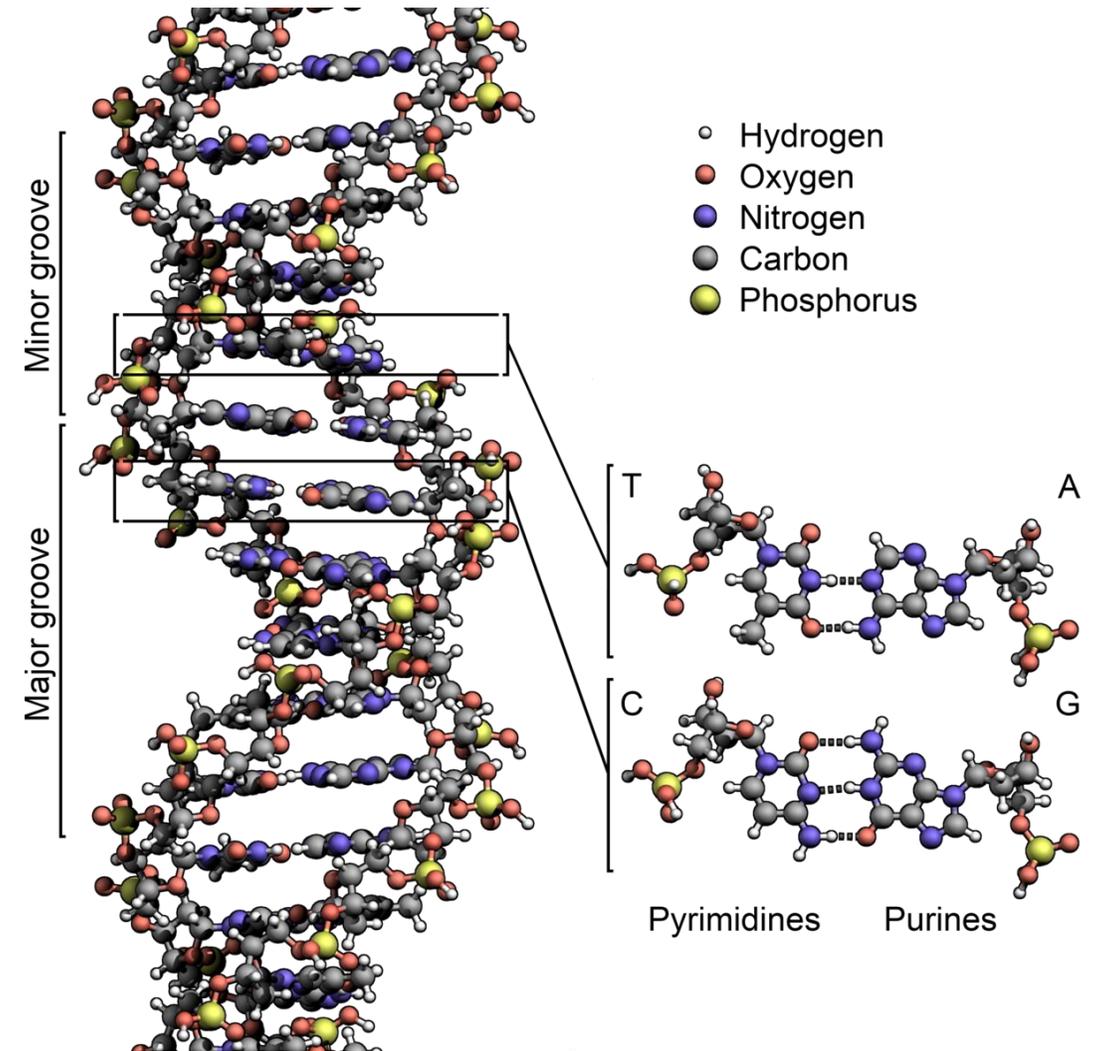
BIOLOGIA SINTÉTICA

LGN232 – Biologia Sintética

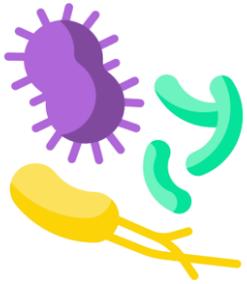
Nicoli Gomes de Moraes
Laboratório de Biologia e Sistemas regulatórios – CENA/USP
nicoligm@usp.br



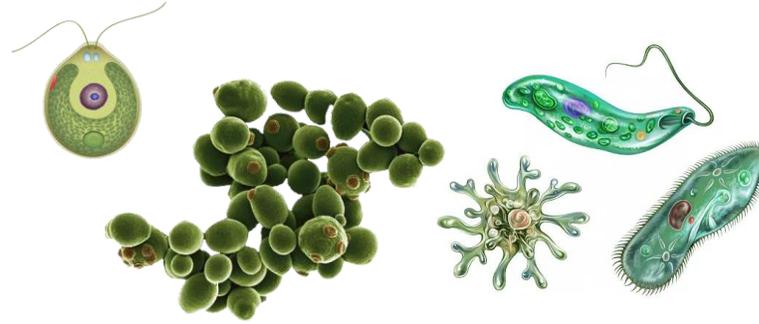
Os desenvolvimentos do último século na física e na Biologia trouxeram conhecimento sobre composições atômicas de milhares de moléculas, revelando ao mundo, o talvez, imensurável grau de complexidade dos sistemas.



O QUE OS SERES VIVOS POSSUEM EM COMUM?



Procariotos

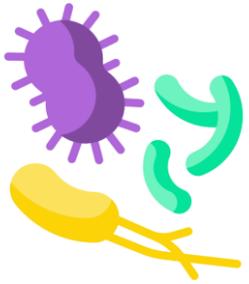


Eucariotos Unicelulares

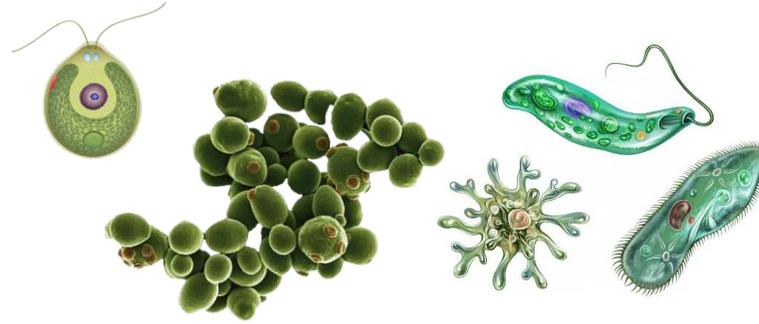


Eucariotos Multicelulares

O QUE OS SERES VIVOS POSSUEM EM COMUM?



Procariotos



Eucariotos Unicelulares



Eucariotos Multicelulares

Célula

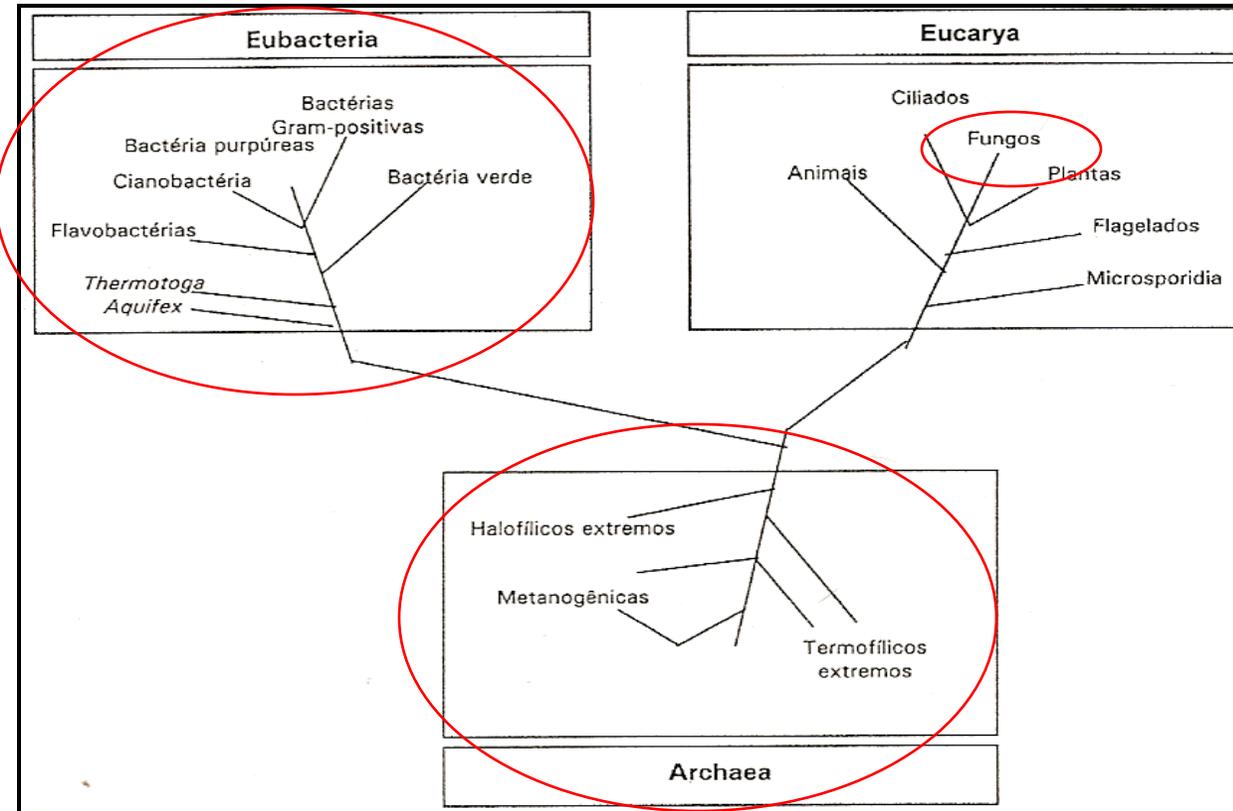
DNA

Genes

Genoma



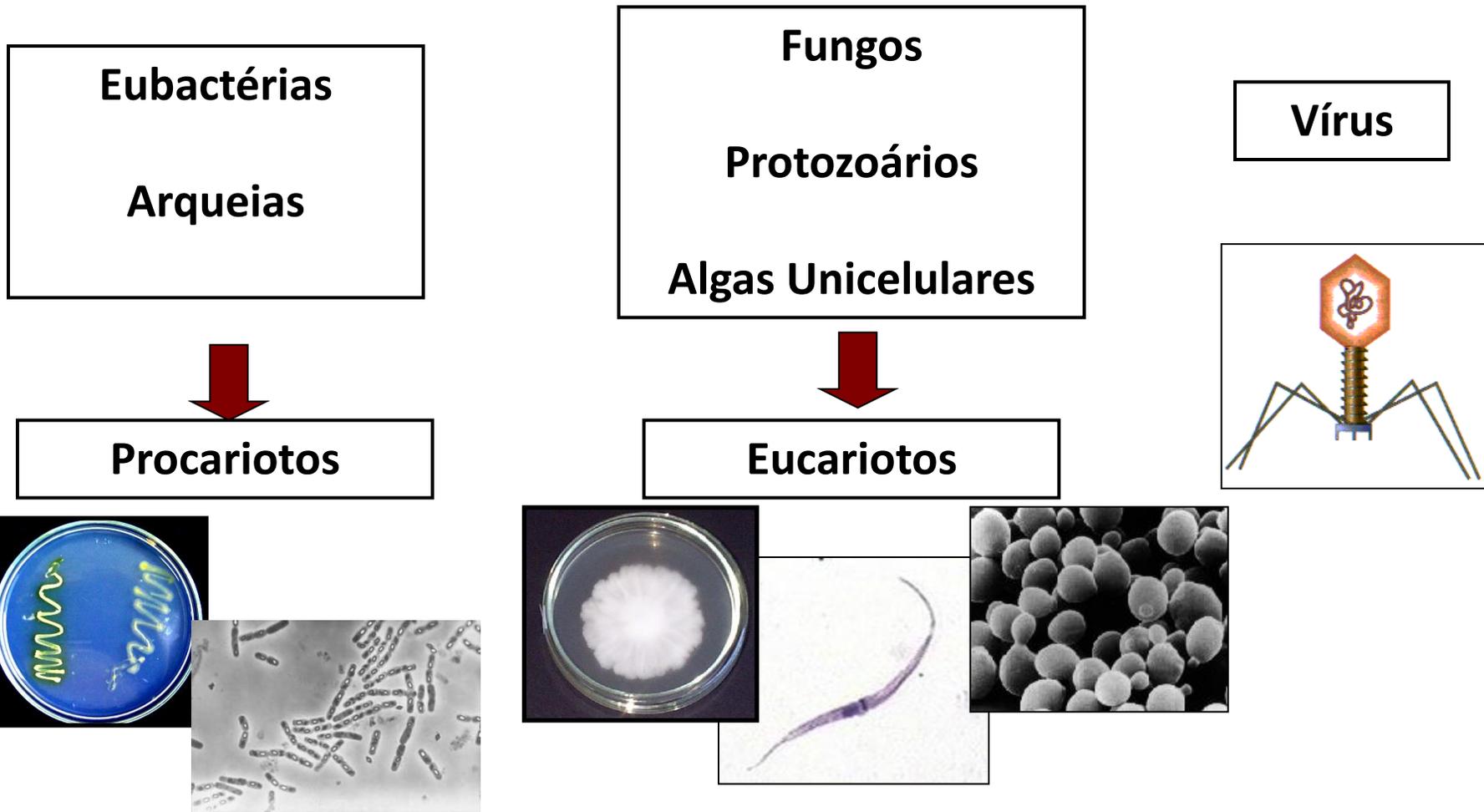
TRÊS DOMÍNIOS



Árvore filogenética derivada das seqüências de base de RNA ribossômico (adaptado de Carl Woese). Fonte: Melo et al., 2002.

MICROORGANISMOS

• Quem são?



DIVERSIDADE MICROBIANA

- Onde eles podem ser encontrados???

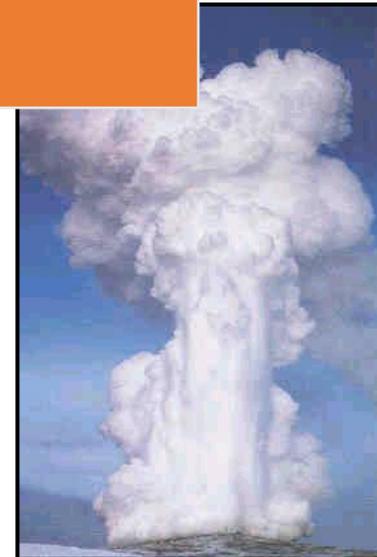
em quase
todos os

T elevadas (+110°C)
T muito baixas

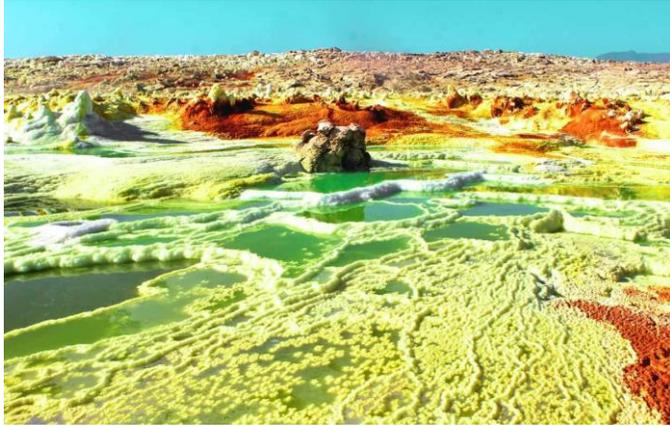
hipersalinos
ácidos

**Alta variação na atividade
metabólica**

recifes de corais
lagos tropicais
mares profundos
florestas tropicais



DIVERSIDADE MICROBIANA



DIVERSIDADE MICROBIANA

Grande diversidade reflete a importância para a biosfera:



- **Degradação de materiais orgânicos;**
- **Degradação de substâncias xenobióticas;**
- **Participação de ciclos biogeoquímicos;**
- **Produção de diversos compostos;**

CARACTERÍSTICAS DE INTERESSE BIOTECNOLÓGICO

- As células desenvolveram redes genéticas complexas para detectar sinais ambientais, incluindo produtos químicos, temperatura, pH e luz, e processar esses sinais para realizar tarefas e funções celulares. Mesmo as células de um organismo multicelular precisam responder a sinais de desenvolvimento, como moléculas sinalizadoras, para determinar quando se dividir, migrar ou morrer.

Atuar na solução de problemas globais:

- Saúde e bem-estar
- Medicina
- Indústria de tecnologia biomédica
- Agricultura de precisão
- Biorremediação
- ... Entre outros

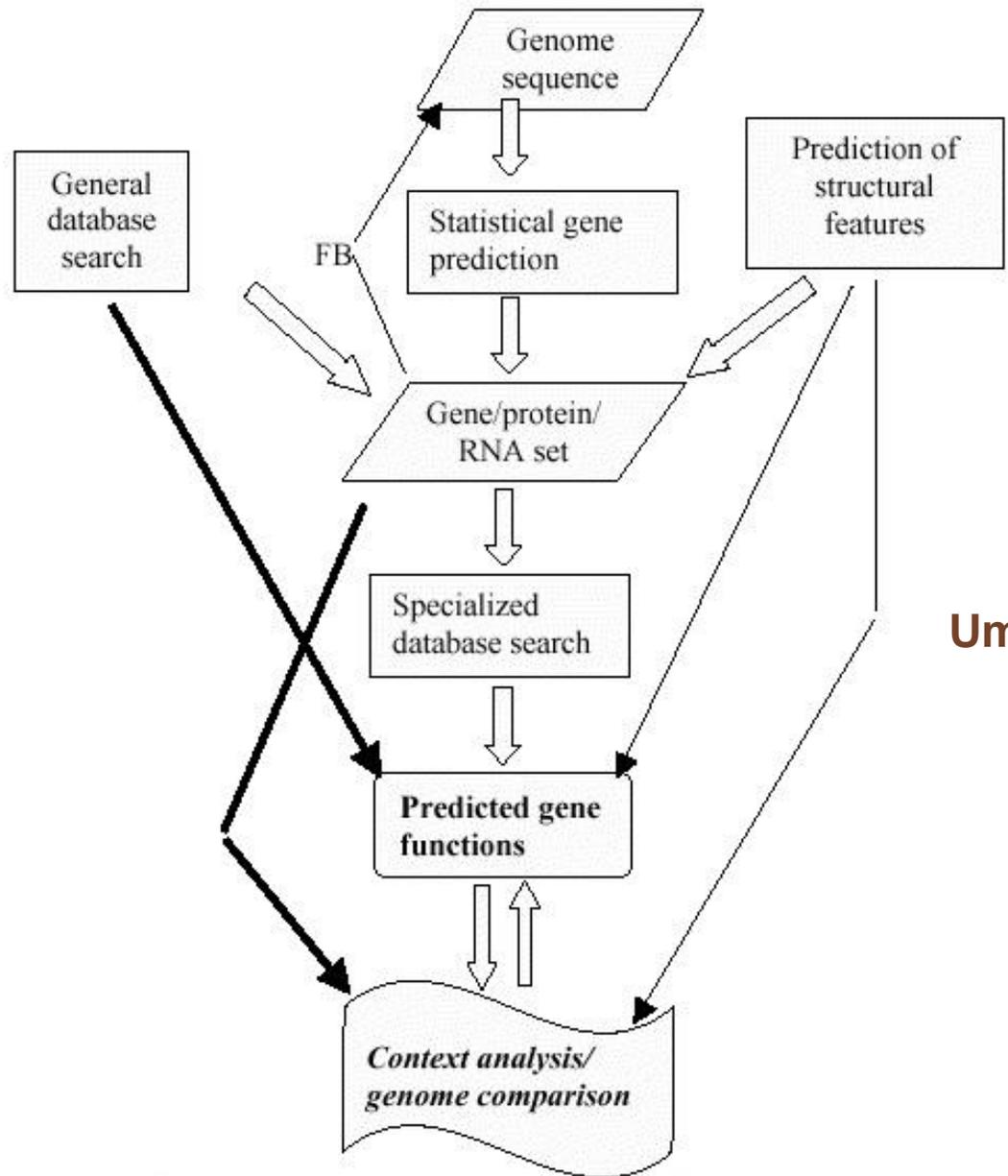
MOLÉCULAS DE INTERESSE

- Essas características são conferidas por mecanismos celulares. São informações genéticas.
- Como utilizar esses mecanismos na biotecnologia?

Primeiro, é necessário conhecer quais genes estão envolvidos na função desejada, sua estrutura, onde atua

Envolve uma série de passos que incluem:

- Extração de DNA e RNA para sequenciamento.
- Anotação do genoma.
- Análise de bioinformática para identificar possíveis alvos.
- Análise da expressão gênica dos genes selecionados.
- Estudos funcionais e caracterização molecular, por exemplo.



Um fluxograma generalizado de anotação do genoma

BANCOS DE DADOS DE ANOTAÇÃO FUNCIONAL

Bancos de dados

The Pfam logo is displayed in a large, bold, blue font.

keyword search

Go

Famílias de proteínas

The logo for the Protein Data Bank (PDB) features the acronym 'RCSB PDB' in blue, with 'PROTEIN DATA BANK' written in smaller letters below it.

Estrutura de proteínas



Interacoes proteína-proteína



Vias metabólicas e
de sinalizacao

The Phosida logo consists of the word 'PHOSIDA' in a large, light blue, sans-serif font.

Posttranslational Modification Database



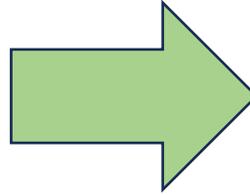
Sequência e informação
funcional



Genes e genomas
metabolismo

E DEPOIS?

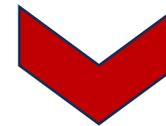
Informação



Ação

**Dados
biológicos**

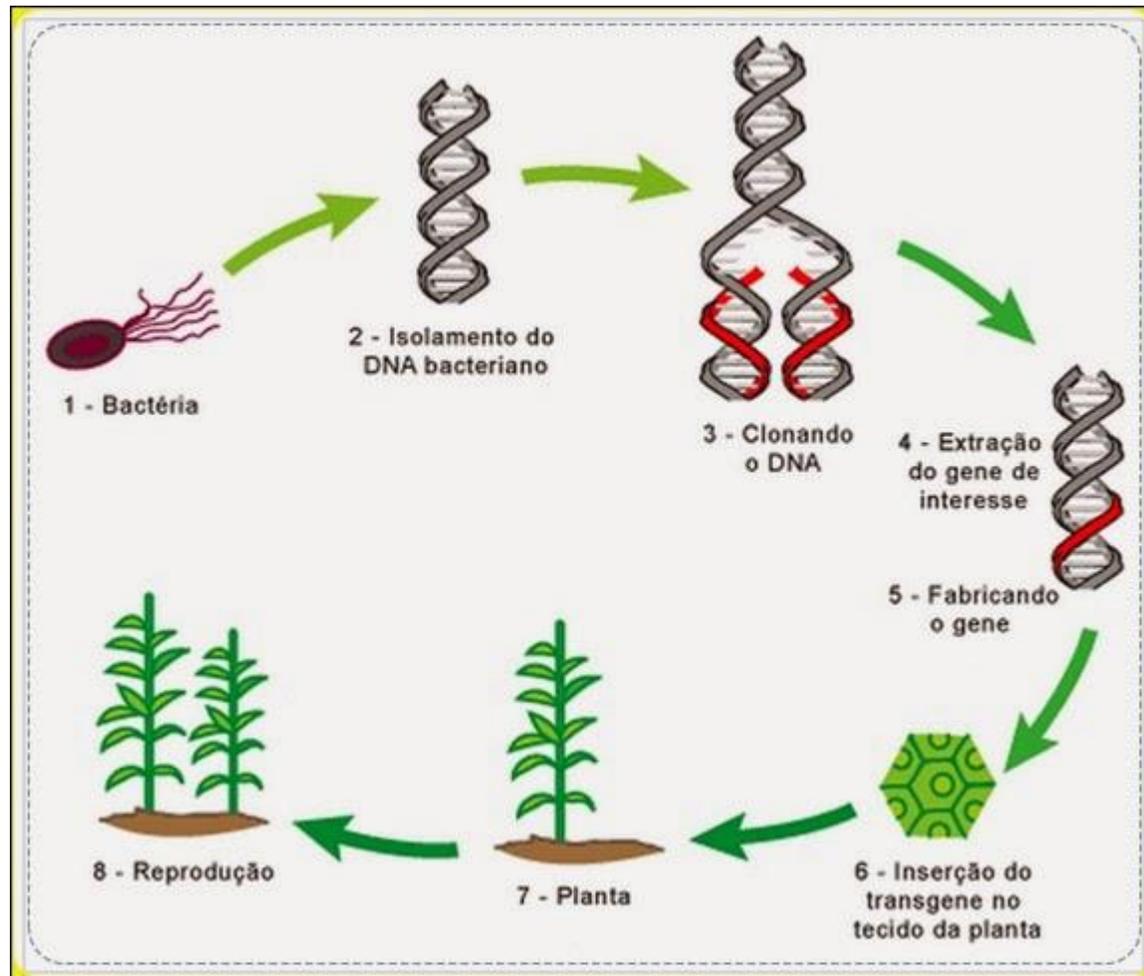
Engenharia genética

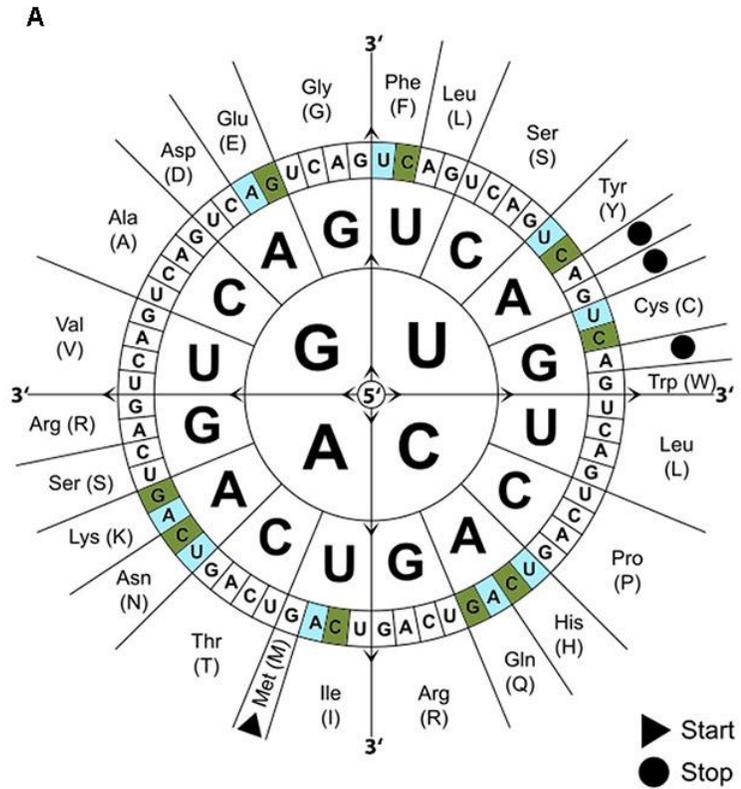


**Obter a informação genética associada com características
úteis de um organismo e adicioná-la em OUTRO**

EXEMPLO

Bacillus thuringiensis- O cristal proteico também chamado de delta-endotoxinas, possui propriedades inseticidas

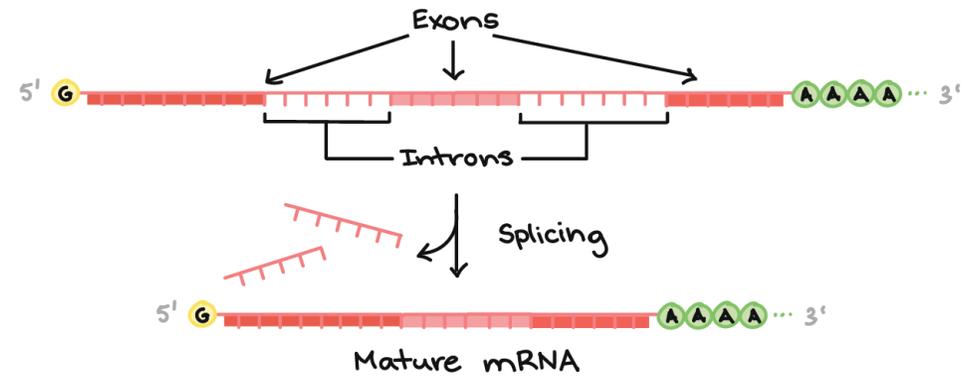




Viés de códon

B

Amino acid	Codon	<i>P. patens</i>	<i>A. thaliana</i>	<i>S. cerevisiae</i>	<i>S. pombe</i>	<i>H. Sapiens</i>
Cys	UGC	+	+	-	+	+
	UGU	-	-	+	-	-
Glu	GAA	-	-	+	-	-
	GAG	+	+	-	+	+
Phe	UUC	+	+	+	+	+
	UUU	-	-	-	-	-
His	CAC	+	+	+	+	+
	CAU	-	-	-	-	-
Ile	AUA	-	-	/	-	-
	AUC	+	+	/	-	+
	AUU	-	-	-	-	-
Lys	AAA	-	-	-	-	-
	AAG	+	+	+	+	+
Asn	AAC	+	+	+	+	+
	AAU	-	-	-	-	-
Gln	CAA	-	-	-	+	-
	CAG	+	+	+	-	+
Tyr	UAC	+	+	+	+	+
	UAU	-	-	-	-	-



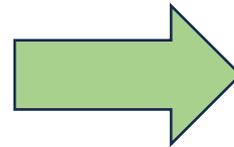
Inserção de íntrons

BIOENGENHARIA MOLECULAR

Busca a compreensão fundamental das interações entre várias moléculas e usa essas informações para projetar **novas moléculas** ou **melhorar as existentes**.

Envolve princípios de engenharia, biologia, química e física em suas aplicações.

É possível alterar

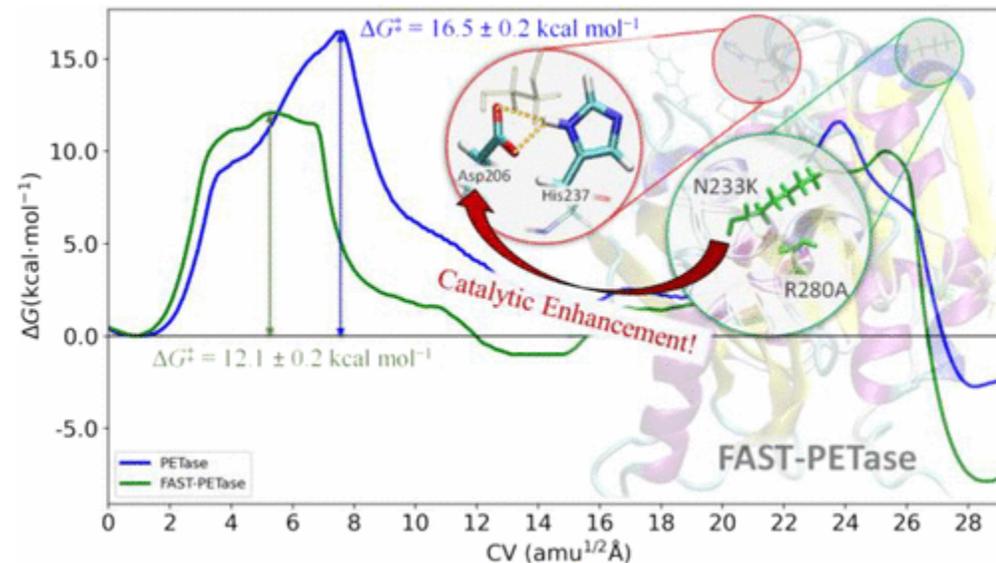


- Afinidade
- Cinética
- Estabilidade
- Especificidade
- Função

EXEMPLO

PETase de *Ideonella sakaiensis* descoberta em 2016 – Hidrolase de PET – Variante selvagem é altamente instável e perde atividade mesmo a 37 °C após 24 h

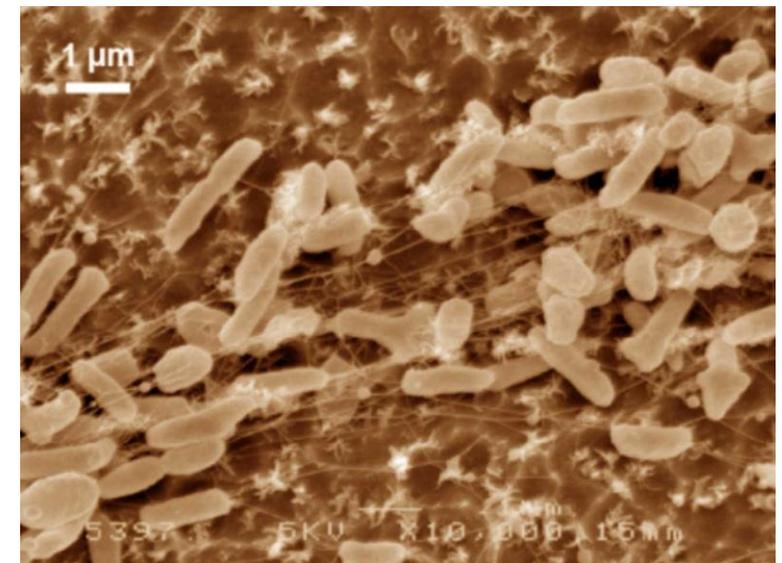
FastPETase desenvolvida por aprendizado de máquinas com apenas 5 mutações – aumento da Termoestabilidade e da atividade de degradação de PET



UM SÓ PLANETA

Cientistas criam enzima que decompõe plástico em horas em vez de séculos

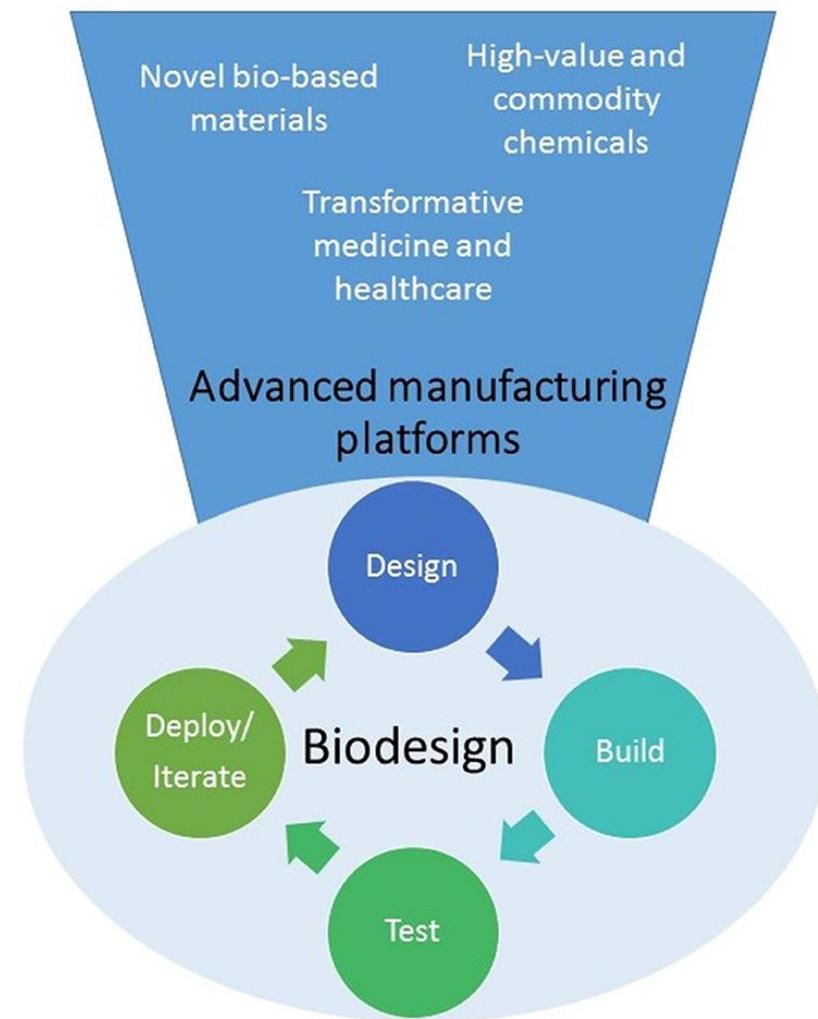
Especialistas degradaram tereftalato de polietileno (PET) — polímero que representa 12% de todo o lixo global — graças a uma proteína fabricada por eles, a FAST-PETase



BIOLOGIA SINTÉTICA

Combinando avanços da engenharia genética e metabólica, bioengenharia molecular, métodos de bioinformática, biologia de sistemas e biofísica, é possível projetar ou redesenhar organismos para executarem funções inteiramente novas - **Princípio de Biologia Sintética**

(Não se trata de uma técnica específica).



BIOLOGIA SINTÉTICA

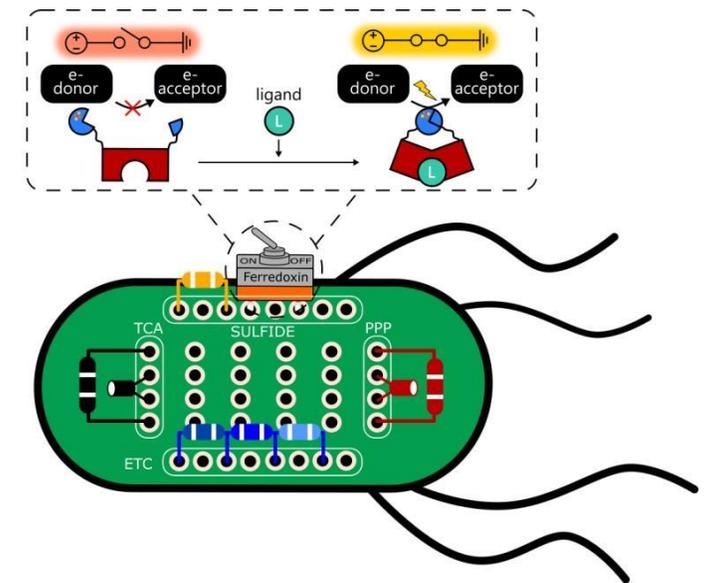
*Design e construção (**síntese**) de circuitos biológicos modulares para o desempenho de funções celulares não naturais (**artificiais**) num dado organismo, visando produtos, serviços, soluções para o cotidiano.*

- **Multidisciplinar**
- Princípio de bioengenharia – **Células vistas como máquinas**
- Tornar os organismos mais fáceis de projetar



OBJETIVOS

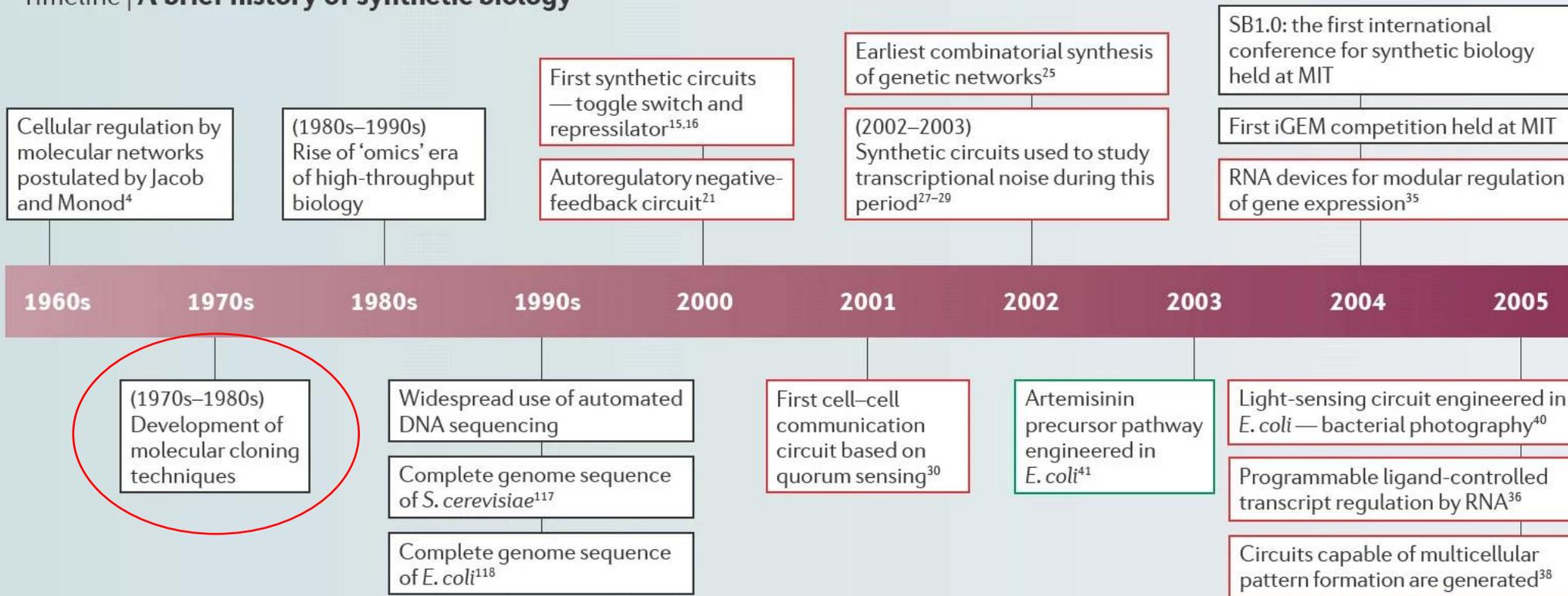
1. Aprender sobre a vida através de sua construção;
2. Fazer com que a engenharia genética, seja padronizada nas suas criações e recombinação para produzir novos e mais sofisticados sistemas;
3. Expandir os limites de seres vivos e máquinas até que ambos se unam, para produção de organismos realmente programáveis.



MARCOS HISTÓRICOS DA BIOLOGIA SINTÉTICA

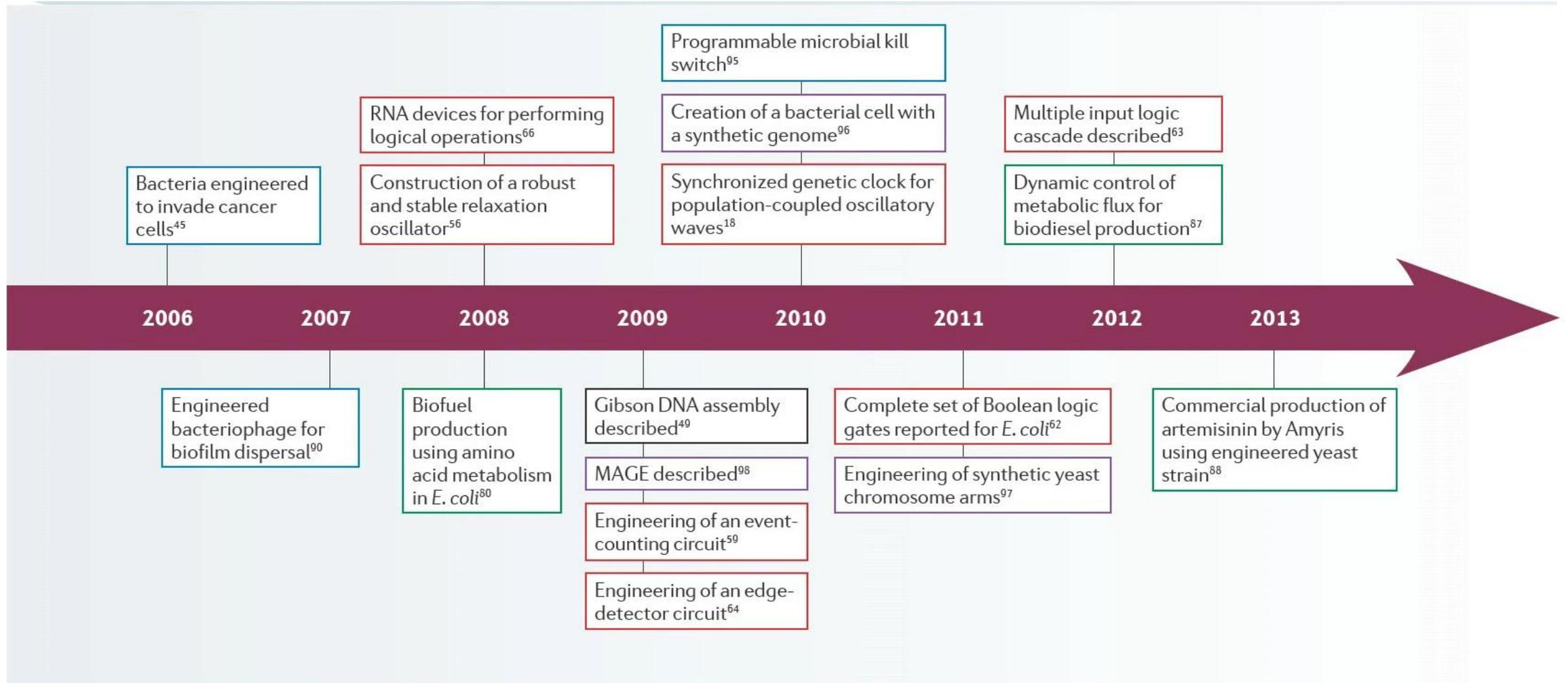
1912 – Primeira utilização do termo: Stéphane Leduc
La biologie synthétique, étude de biophysique

Timeline | A brief history of synthetic biology

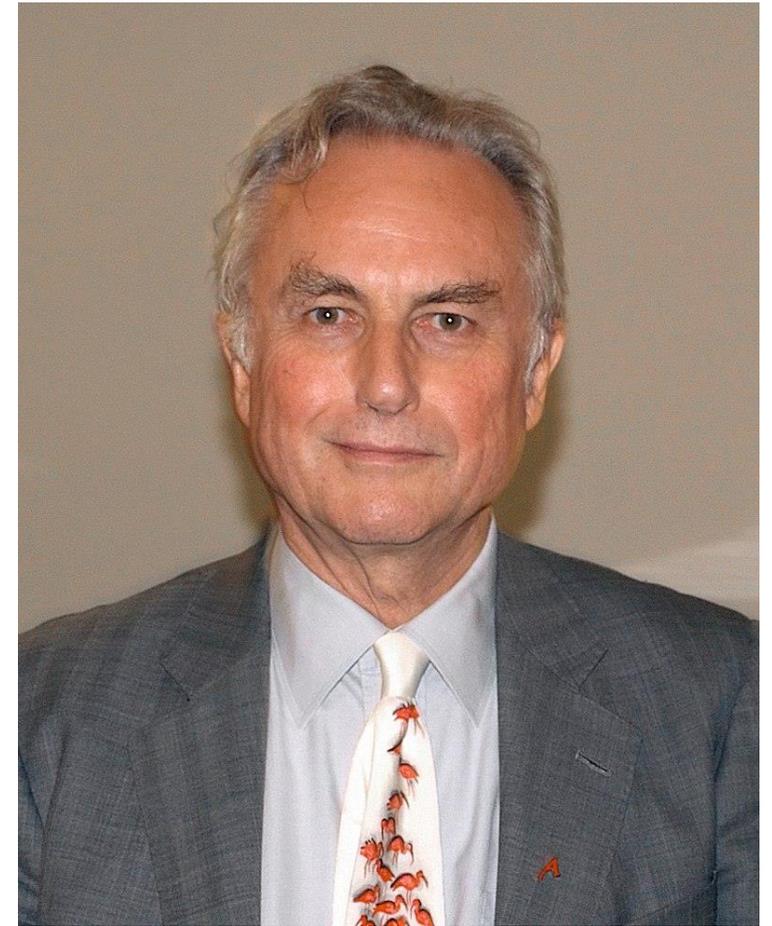


Key to coloured boxes: technical or cultural milestones (black); circuit engineering (red); synthetic biology in metabolic engineering (green); therapeutic applications (blue); whole genome engineering (purple). *E. coli*, *Escherichia coli*; iGEM, International Genetically Engineered Machine; MAGE, multiplex automated genome engineering; MIT, Massachusetts Institute of Technology; SB1.0, Synthetic Biology 1.0; *S. cerevisiae*, *Saccharomyces cerevisiae*.

MARCOS HISTÓRICOS DA BIOLOGIA SINTÉTICA



“Estou fascinado com a ideia de que a genética é digital. Um gene é uma longa sequência de letras codificadas, como informações do computador. A biologia moderna está se tornando muito mais um ramo da tecnologia da informação.”



(Richard Dawkins, 2013)

COMO CONSTRUIR MÁQUINAS BIOLÓGICAS?

1) Problema

- **O que você quer resolver?**
- Desenvolvimento de um novo produto? (Exemplo: Vacinas, biopesticidas...)
- Melhorar algum processo? (exemplo: resistência de leveduras à pH durante processo de fermentação, Biosensor para detecção de algum patógeno...)

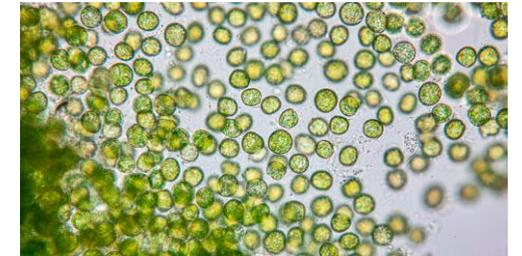
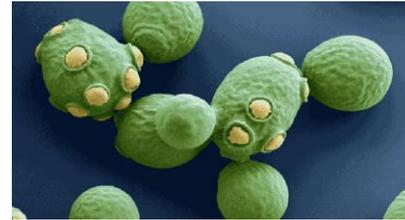
COMO CONSTRUIR MÁQUINAS BIOLÓGICAS?

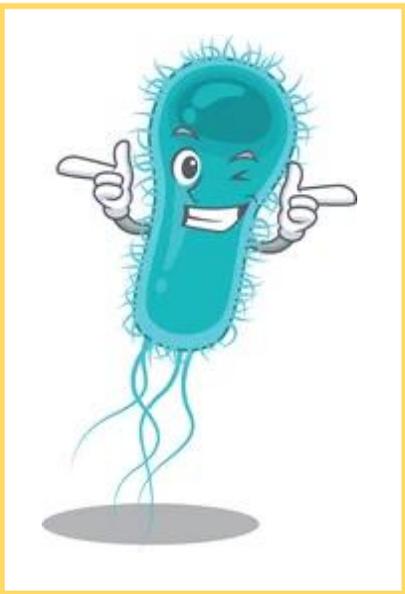
2) Escolha do Chassi

Organismo hospedeiro no qual os componentes biológicos projetados serão inseridos e expressos.

Escolhido com base em suas características:

- Facilidade de manipulação
- Capacidade de crescimento
- Caixa de ferramentas bem definidas
- Tolerância a modificações genéticas
- Controle da expressão gênica ...





Escherichia coli



1º Lugar – O chassi mais utilizado

PRÓS

- Organismo Modelo
- Rápido crescimento
- Genoma sequenciado
- Muitas informações disponíveis
- Diversas ferramentas e partes padronizadas
- Fácil manipulação
- Fácil transformação (ex: Choque térmico)
- Armazenamento por longos períodos (-80°C por até 10 anos)

CONTRAS

- Não secreta produtos
- Não realiza modificações co e pós-traducionais
- Problemas com expressão de genes eucarióticos

COMO CONSTRUIR MÁQUINAS BIOLÓGICAS?

3) Reconhecer nos sistemas biológicos partes (genes, proteínas, metabólitos) que controlam funções específicas nas células e usá-los para gerar circuitos lógicos que realizam uma função biológica desejada.

Elementos envolvidos no controle da expressão gênica e genes repórteres.

Exemplos:

- Riboswitches
- Reguladores transcricionais
- miRNA
- Peptídeos de auto-clivagem
- Peptídeo sinal
- Promotores
- Terminadores
- Enzimas

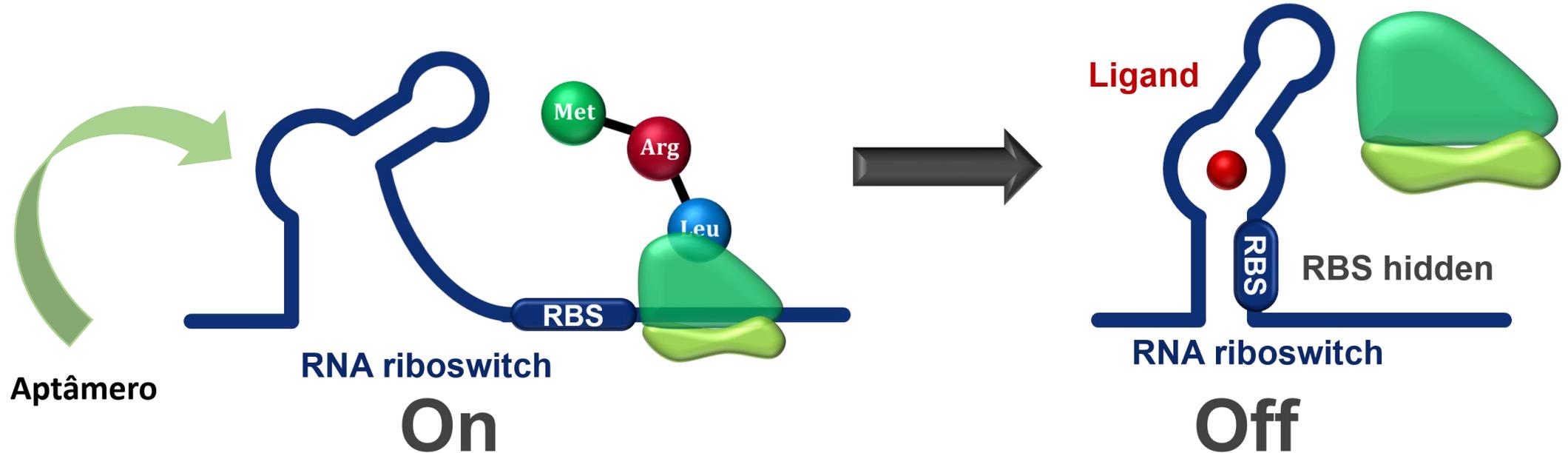
...

○ Promotores

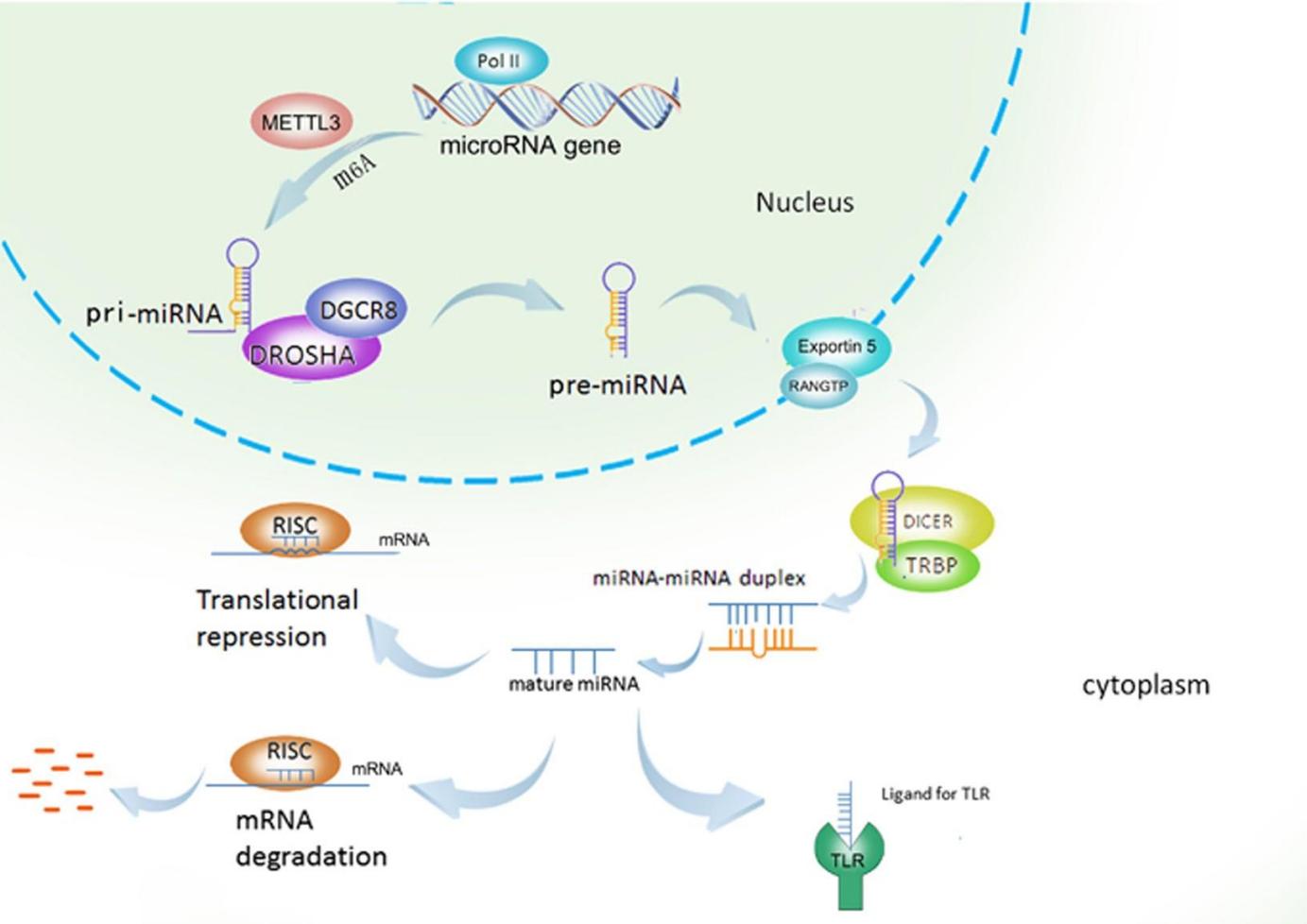
Characteristics	Example	References
Constitutive	<i>Pcpc560</i>	(Huang et al., 2010; Zhou et al., 2014; Englund et al., 2016; Ruffing et al., 2016; Ferreira et al., 2018; Li et al., 2018; Liu and Pakrasi, 2018)
Inducible		
CO ₂	<i>PcpcB</i>	(Sengupta et al., 2019)
Cobalt	<i>PcoaT</i>	(Peca et al., 2008; Guerrero et al., 2012; Englund et al., 2016)
Copper	<i>PpetE</i>	(Briggs et al., 1990; Guerrero et al., 2012; Englund et al., 2016)
Green-light	<i>PcpcG2</i>	(Abe et al., 2014a)
Heavy metals	<i>Psmt</i>	(Guerrero et al., 2012)
Light	<i>PpsbA2</i>	(Englund et al., 2016; Li et al., 2018)
Nickel	<i>PnrsB</i>	(Peca et al., 2008; Englund et al., 2016)
Nitrite	<i>PnirA</i>	(Qi et al., 2005)
Rhamnose	<i>PrhaBAD</i>	(Kelly et al., 2018)
UV-B	<i>PpsbA3</i>	(Máté et al., 1998)
Zinc	<i>PziaA</i>	(Peca et al., 2008; Englund et al., 2016)
Repressible		
CO ₂	<i>Prbc</i>	(Sengupta et al., 2019)
High light intensity	<i>PcpcB</i>	(Sengupta et al., 2019)
LacI (IPTG Inducible)	<i>Ptrc</i>	(Huang et al., 2010; Guerrero et al., 2012; Oliver et al., 2013; Markley et al., 2015; Ferreira et al., 2018; Li et al., 2018)

○ Riboswitches

- Elementos regulatórios de mRNA que controlam se a seção de codificação da proteína é lida ou não. Eles são compostos por 2 domínios funcionais (aptâmero e plataforma de expressão).
- Encontrados em regiões não codificadoras (5'UTR) .
- A presença ou ausência de um gatilho (de pequenos íons metálicos, aminoácidos, proteínas e outras moléculas de RNA), ou alterações de temperatura e pH, causam uma mudança na conformação do riboswitch, permitindo ou não que a região codificadora da proteína seja lida por um ribossomo e traduzida.



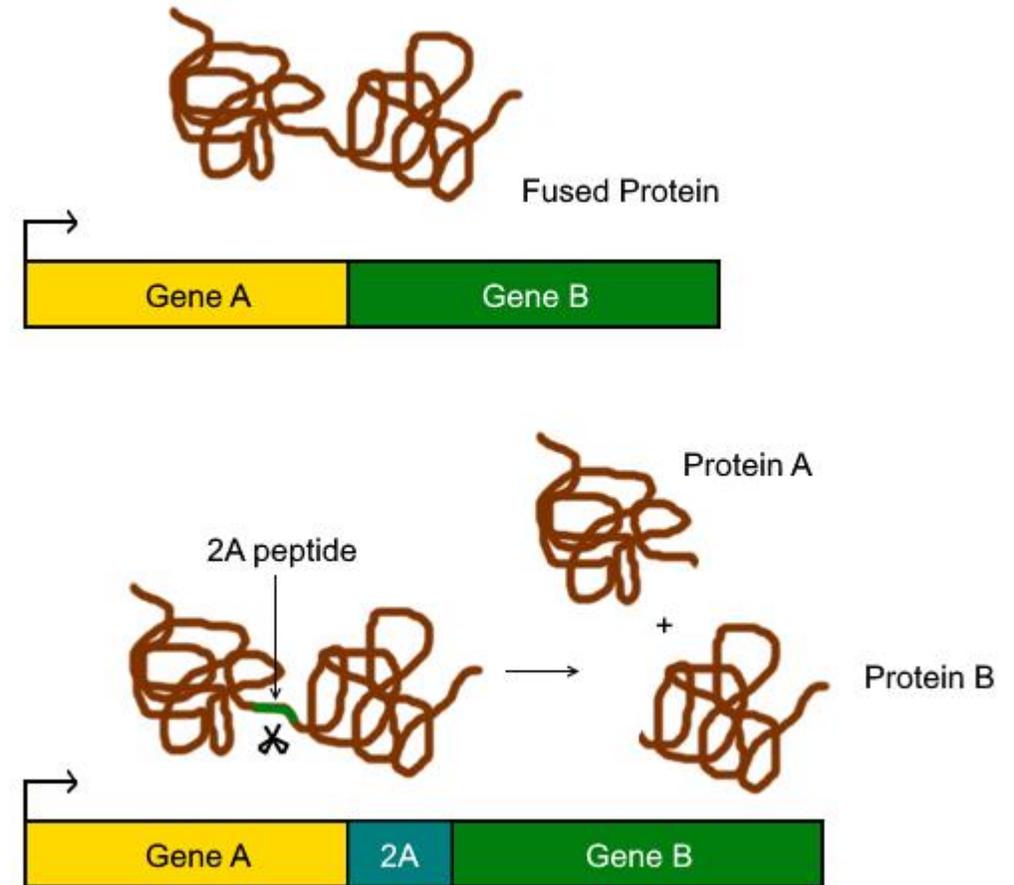
○ miRNAs



- **Peptídeos de auto-clivagem**

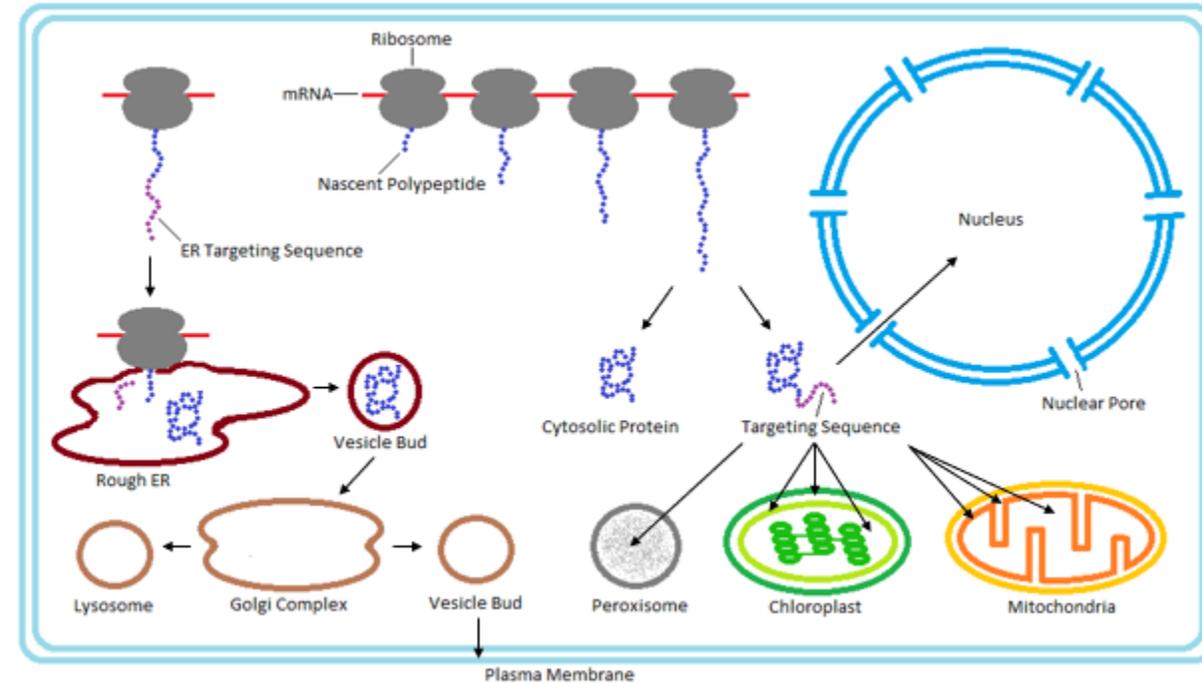
Ex. Peptídeos 2A

- **Promovem salto ribossômico durante a tradução que resulta na produção de peptídeos independentes a partir de um mRNA.**
- **Proteína do gene A retém em seu C-terminal todos os aminoácidos 2A, exceto o resíduo (prolina)**
- **A prolina permanece ligada ao N-terminal da proteína do gene B.**

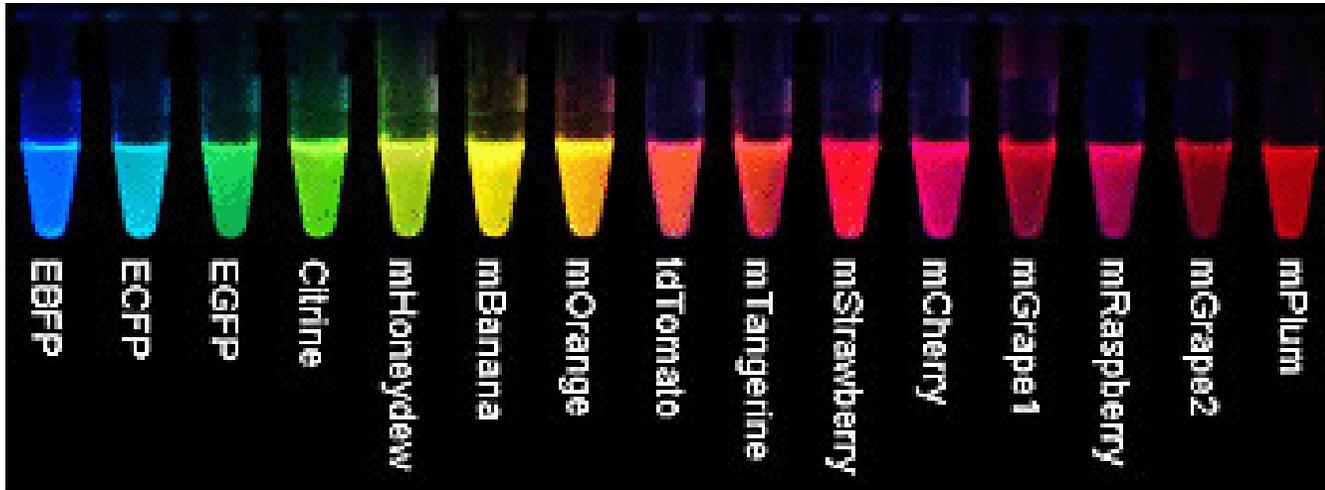


- **Peptídeos sinalizadores**

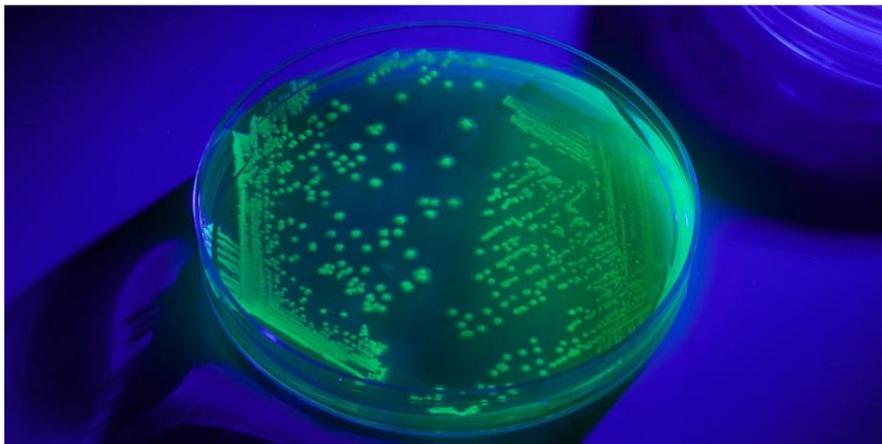
- São sequências de 15 a 30 aminoácidos envolvidas na translocação de proteínas através de diferentes membranas.
- Direcionamento para: retículo endoplasmático, mitocôndrias, cloroplastos a membrana citoplasmática, por exemplo.



- Proteínas fluorescentes



Muito utilizadas como proteínas repórteres.

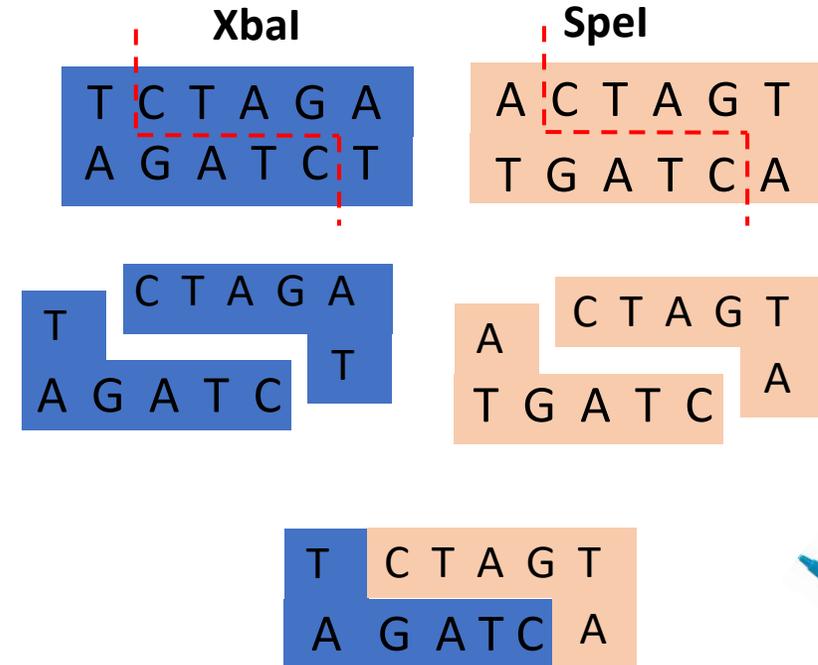
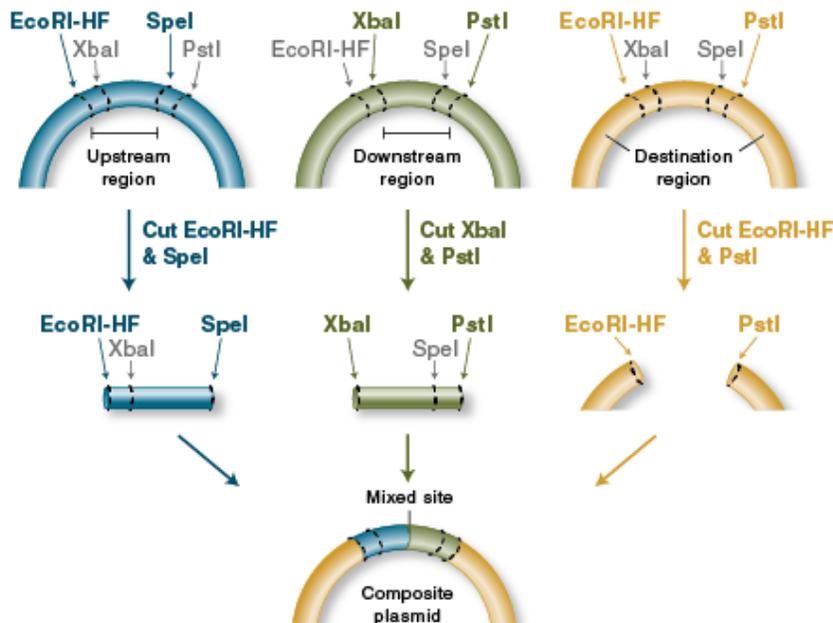


COMO CONSTRUIR MÁQUINAS BIOLÓGICAS?

4) Caracterizar e padronizar essas partes, para que elas possam ser reutilizadas.

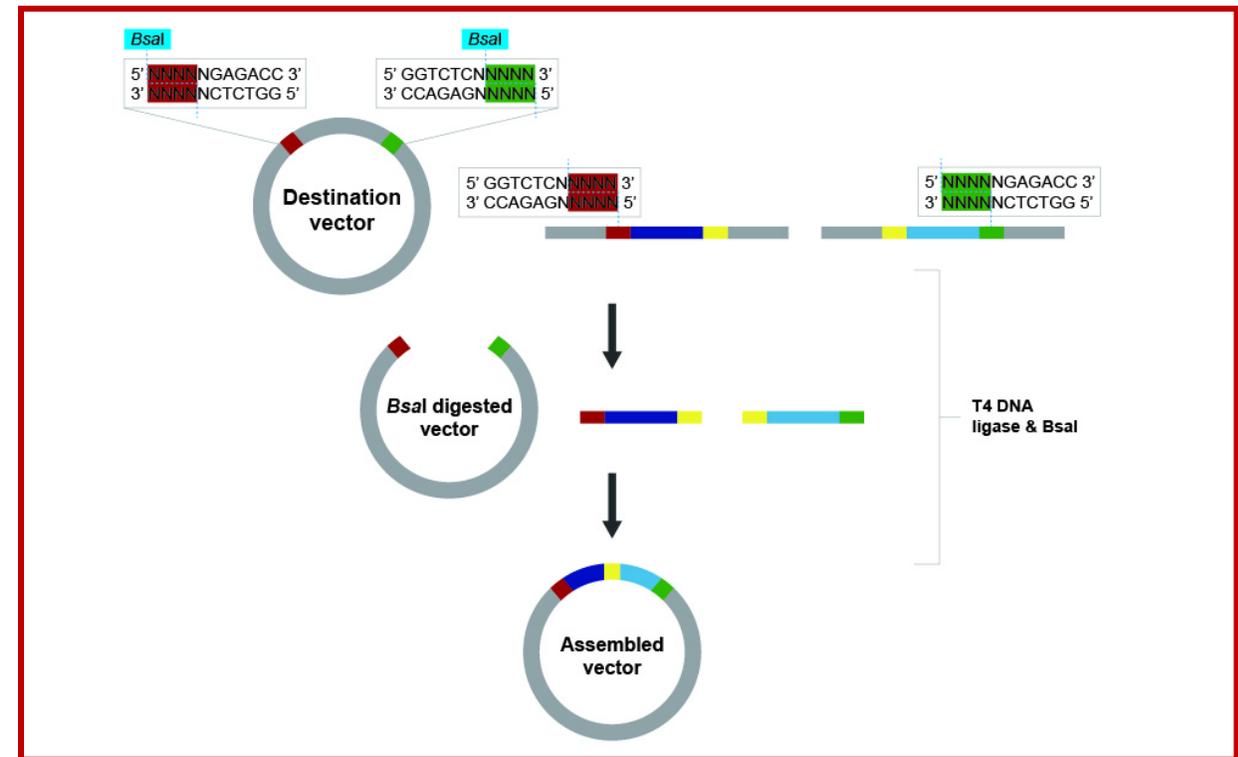
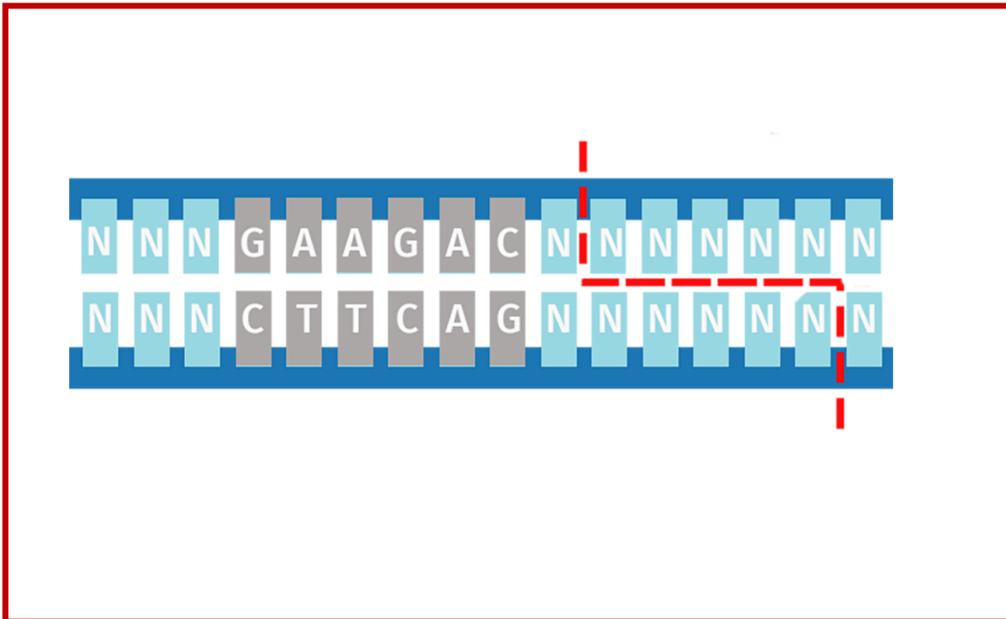
Sistema Biobricks (Tijolos biológicos)

São sequências de DNA de estrutura e função definidas que compartilham uma interface em comum, flanqueadas por uma porção a jusante e a montante universal – Modularidade



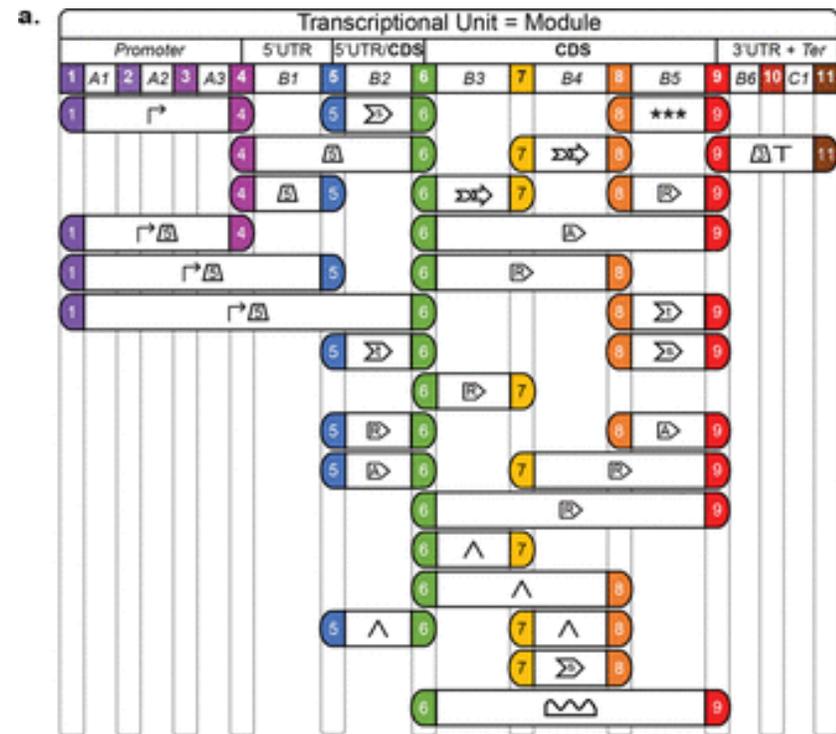
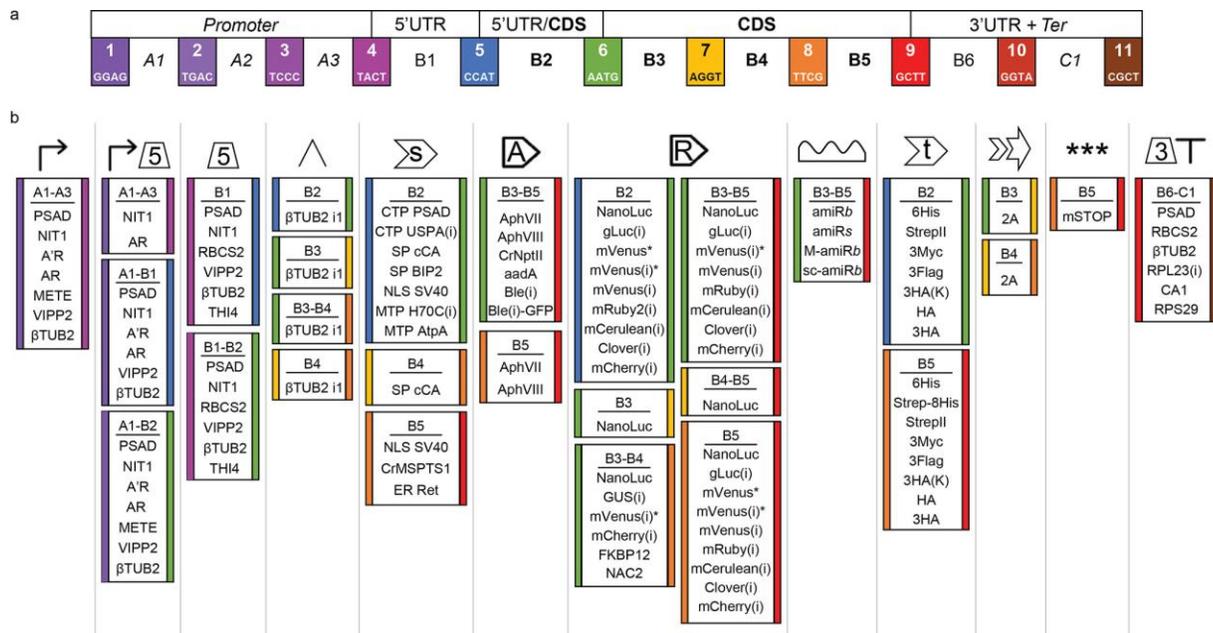
Golden Gate Modular cloning - Moclo

- Padronizar as partes com extremidades contendo sítios de Enzimas de restrição do tipo IIS (ex. BsaI) – clivam fora do local de reconhecimento
- Montagem de múltiplos fragmentos de DNA em uma ordem linear definida.



Símbolos padrão em biologia sintética

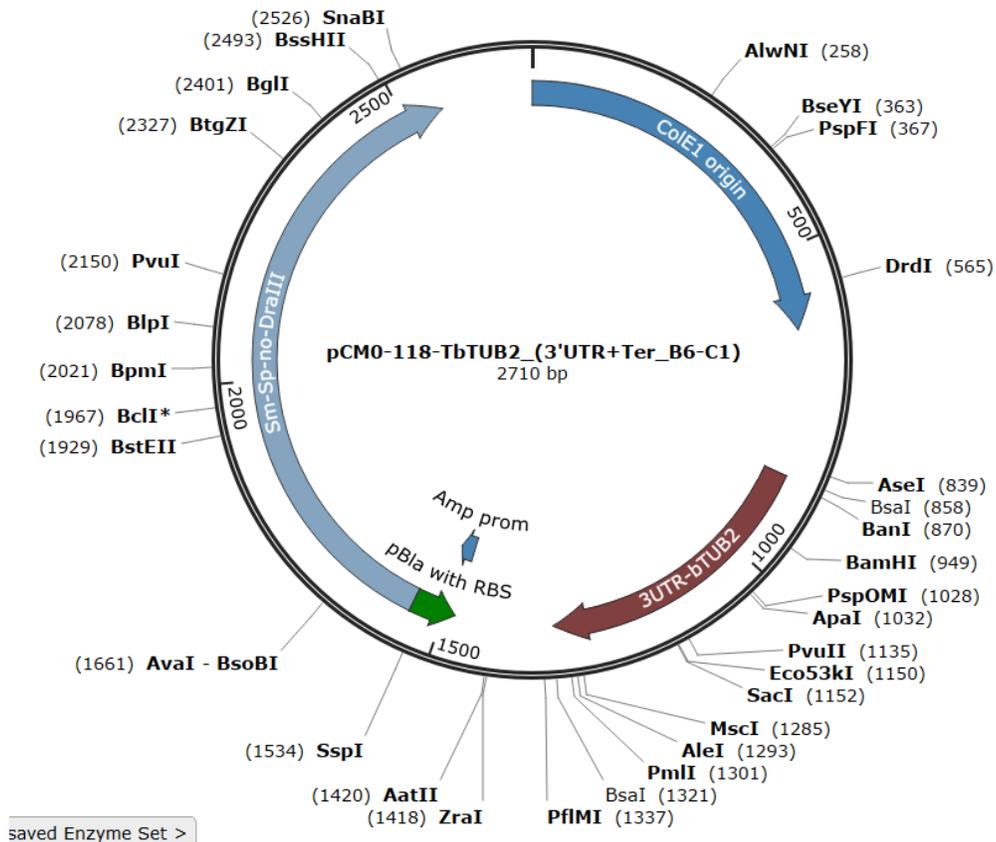
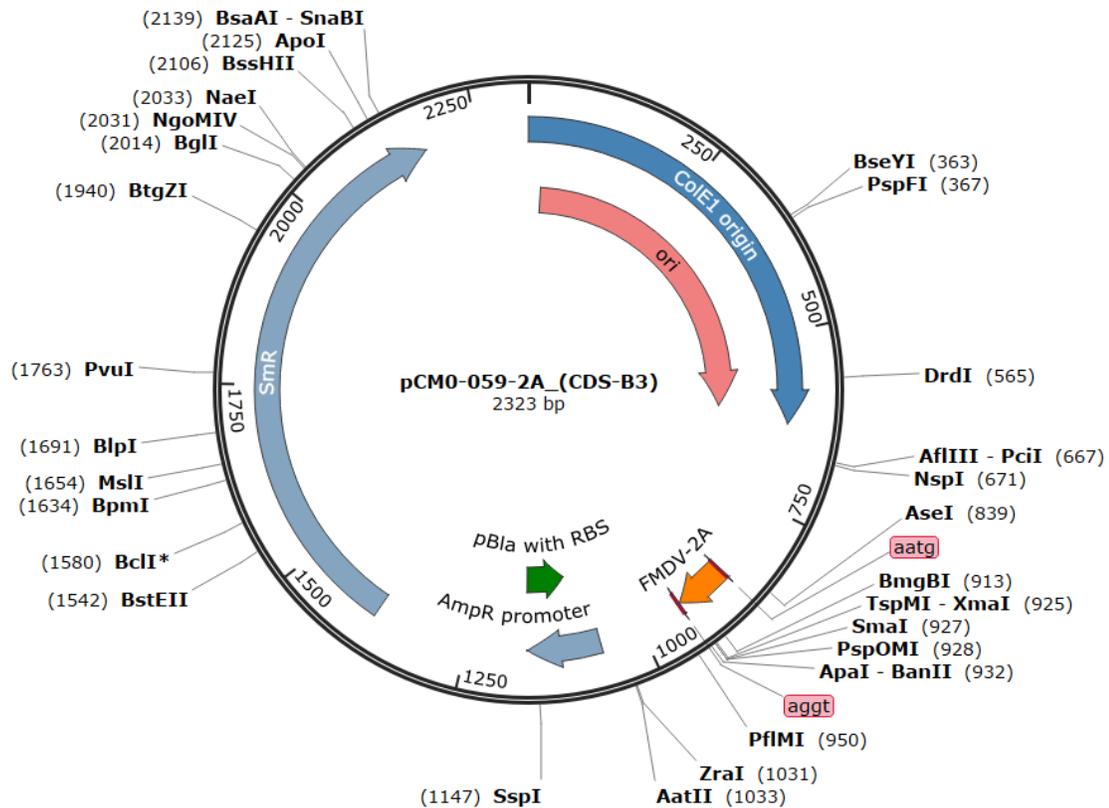
 promoter	 primer binding site
 cds	 restriction site
 ribosome entry site	 blunt restriction site
 terminator	 5' sticky restriction site
 operator	 3' sticky restriction site
 insulator	 5' overhang
 ribonuclease site	 3' overhang
 rna stability element	 assembly scar
 protease site	 signature
 protein stability element	 user defined
 origin of replication	



b.

Types of part (non transcribed; translated)	SBOL	Parts	Unique parts
Promoters	↗	7	7
Promoters + 5'UTR	↗ 5	15	7
5'UTR	5	12	6
Introns	^	4	1
Signal and Targeting peptides	↗ S	11	9
Immuno and purification tags	↗ T	15	8
Reporter genes	R	34	12
Antibiotic Resistance genes	A	8	5
3'UTR / Terminators	5 T	6	6
2A peptide	↗ ↗	2	1
amiR	~	4	4
Multi-Stop	***	1	1
Total		119	67

1 feature is not displayed



Synthetic Biology

- BIOFAB plasmid set - Endy
- CIDAR MoClo Extension, Volume I - Murray
- CIDAR MoClo Parts Kit - Densmore
- CyanoGate Kit - McCormick
- EcoFlex MoClo Toolkit for *E. coli* synthetic biology - Freemont
- GoldenBraid 2.0 Kit - Orzaez
- GoldenPiCS Kit - Gasser, Mattanovich, & Sauer
- Marionette Sensor Collection - Voigt
- MoChlo: Modular Cloning Chloroplast Toolbox - Lenaghan
- MoClo Toolkit - Marillonnet
- MoClo Pichia Toolkit - Sieber
- MoClo Plant Parts Kit - Patron
- MoClo Plant Parts II and Infrastructure Kit - Stuttmann
- MoClo Yeast Toolkit (YTK) - Dueber
- Start-Stop Assembly Toolkit - Heap
- Sybody Generation Toolbox - Seeger
- The Mammalian Toolkit - El-Samad
- Ubigate Collection - Trujillo
- Yeast GoldenBraid Cloning System and Toolkit - Bernat
- Yeast GPCR-sensor Toolkit - Ellis
- Yeast Secrete and Detect - Marillonnet

[Return to Top](#)

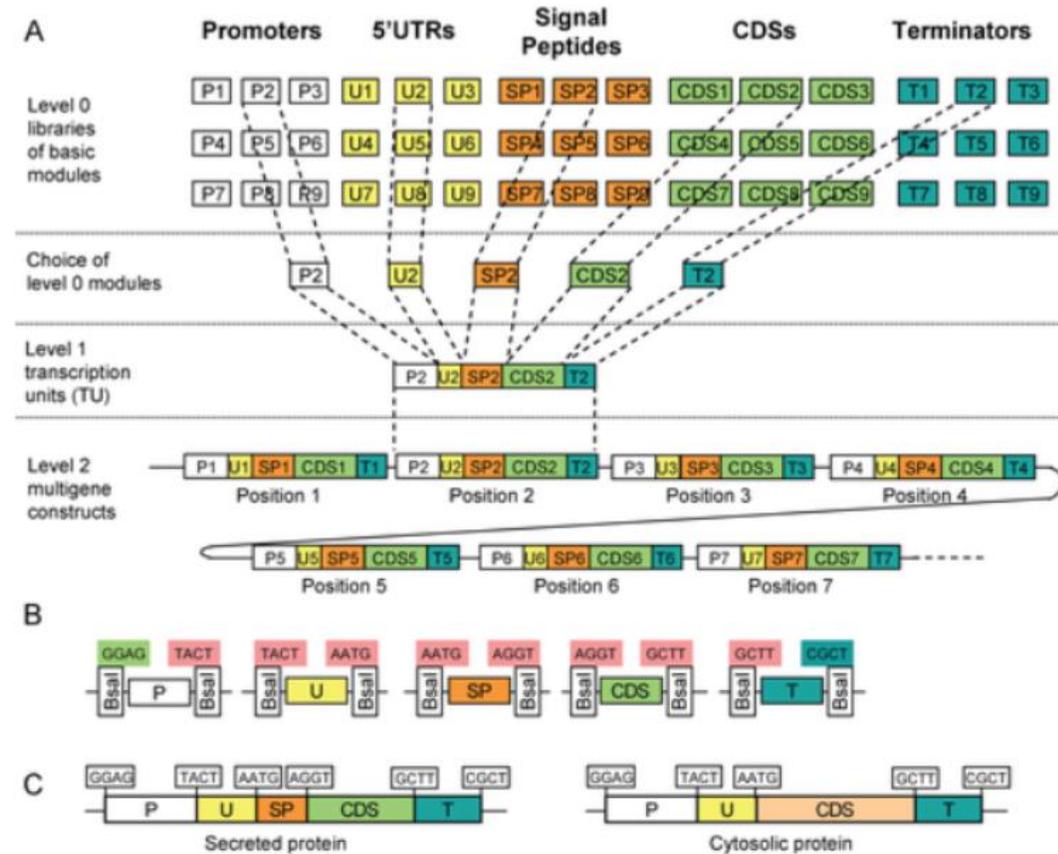
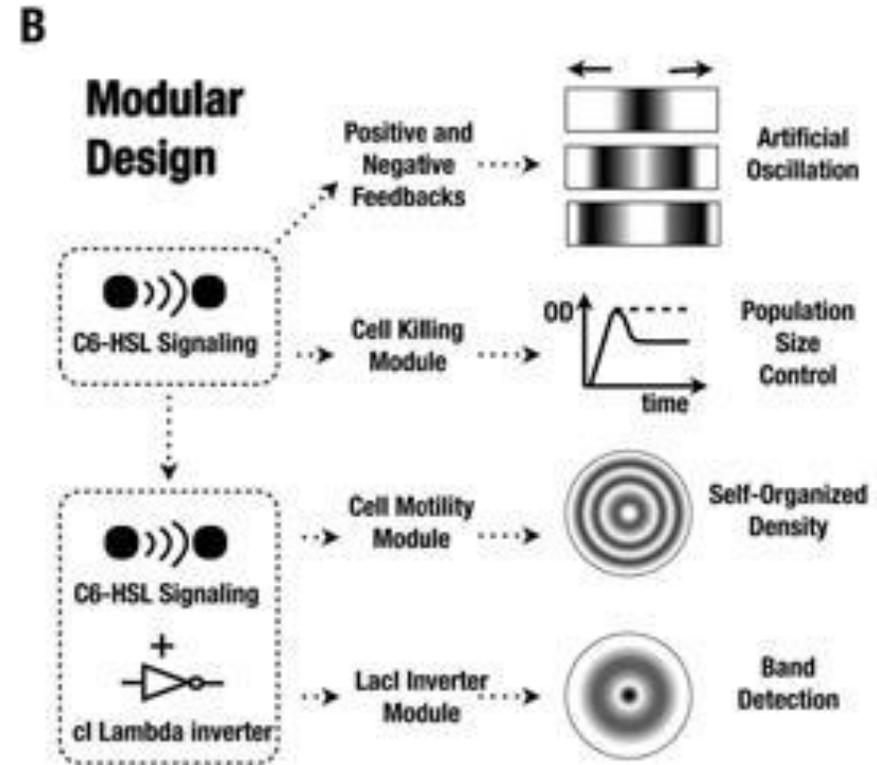
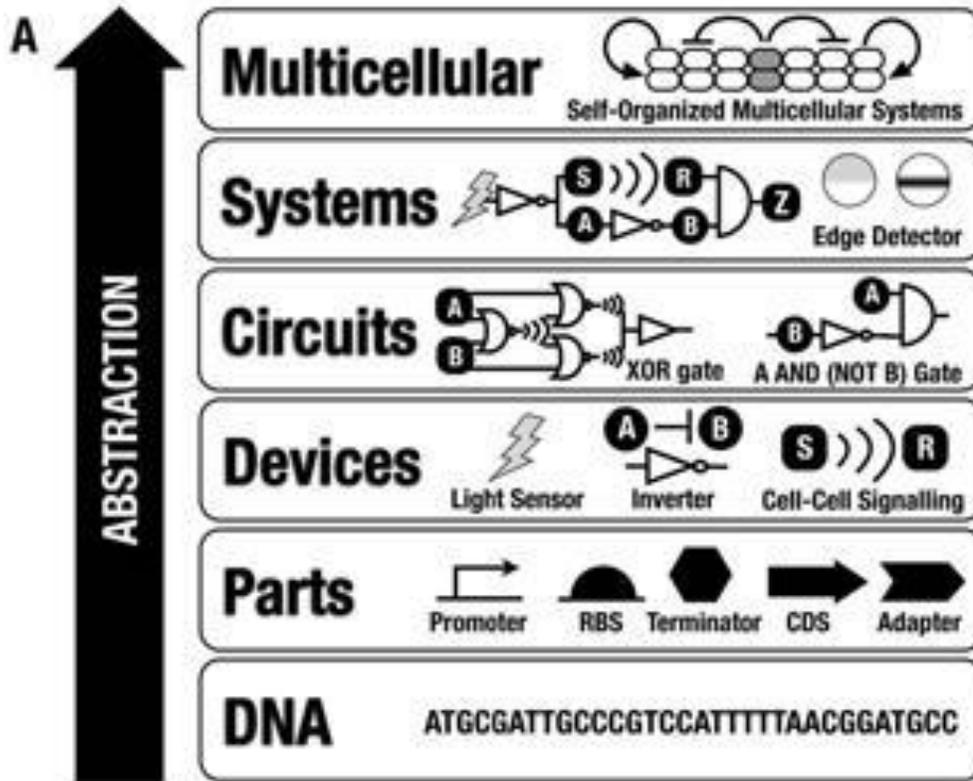


Image from Weber et al., PLoS One. 2011 Feb 18;6(2):e16765.

COMO CONSTRUIR MÁQUINAS BIOLÓGICAS?

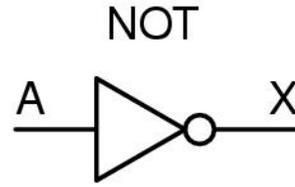
5) Escolher as partes para compor dispositivos, circuitos e sistemas – Programar o comportamento celular



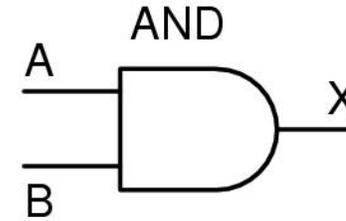
PORTAS LÓGICAS – ÁLGEBRA DE BOOLE

- Dispositivos que operam e trabalham com um ou mais sinais lógicos de entrada para produzir apenas uma saída.
- Lógica Booleana: níveis lógicos 0 e 1

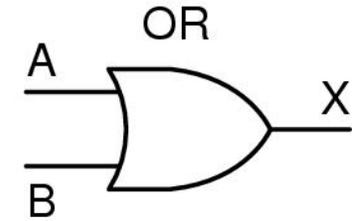
Nível lógico 0	Nível lógico 1
Falso	Verdadeiro
Desligado	Ligado
Baixo	Alto
Sim	Não
Ausência	Presença



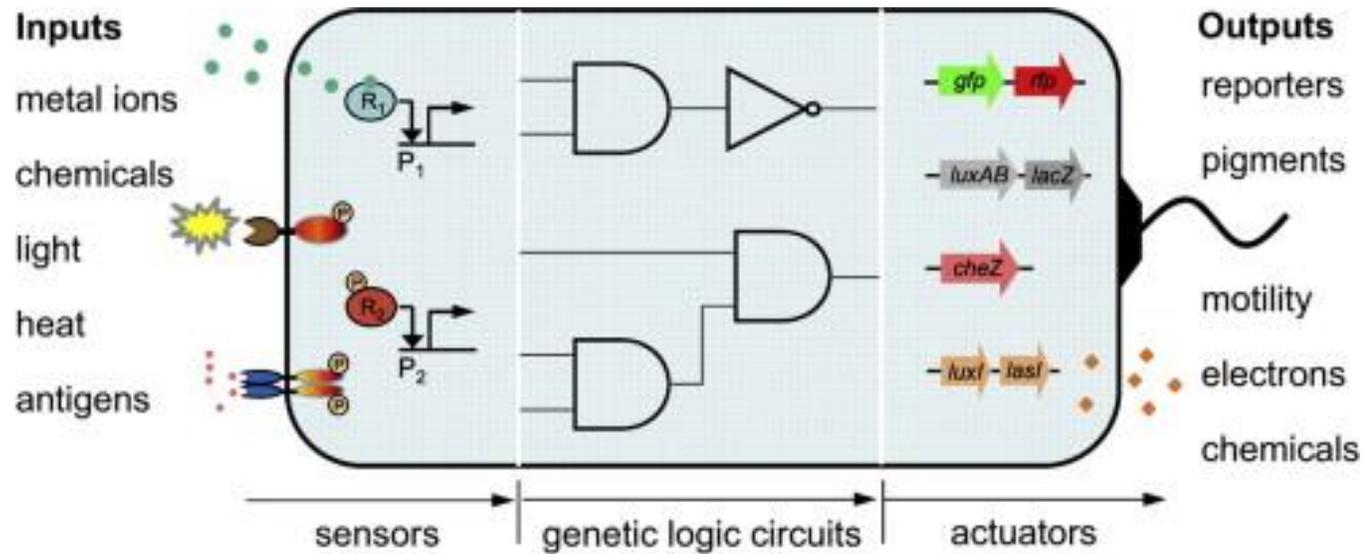
A	X
0	1
1	0



A	B	X
0	0	0
0	1	0
1	0	0
1	1	1



A	B	X
0	0	0
0	1	1
1	0	1
1	1	1



Análogo a um sensor eletromecânico, uma rede de sinalização celular normalmente consiste em três módulos interconectados:

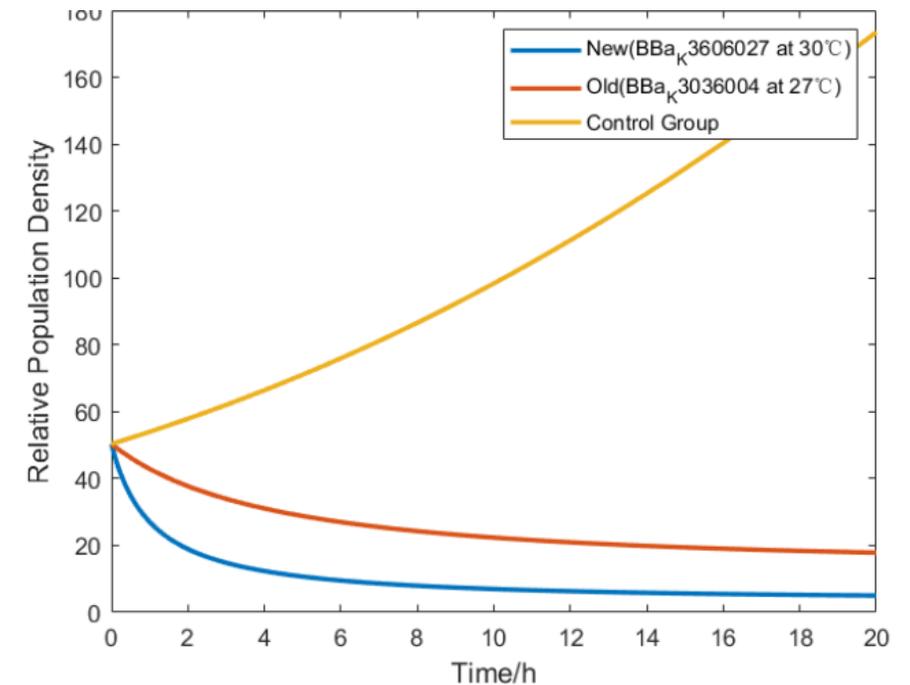
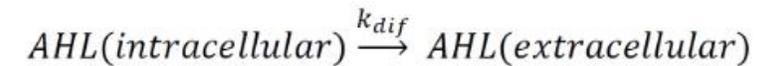
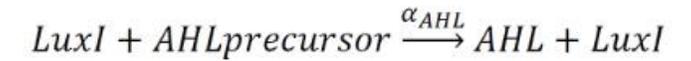
- Os sensores de entrada
- O processamento interno
- Circuitos reguladores e atuadores de saída para permitir a detecção de sinal e adaptações oportunas na fisiologia celular.

MODELAGEM MATEMÁTICA

- **Através de softwares e ferramentas computacionais;**
- **Permite prever e simular o comportamento de um sistema;**
- **Facilita a construção de um circuito eficiente;**
- **Evita muitos erros;**
- **Reduz a necessidade de experimentos.**

$$\frac{dN}{dt} = rN - KN^2$$

$$N = \frac{1}{K} + \left(\frac{1}{N_0} - \frac{K}{r}\right)e^{-rt}$$



COMO CONSTRUIR MÁQUINAS BIOLÓGICAS?

6) Realizar a montagem das partes biológicas na prática – Processo de conectar uma parte a outra, formando partes maiores e com funções mais complexas (Métodos Biobricks e MOCLO).

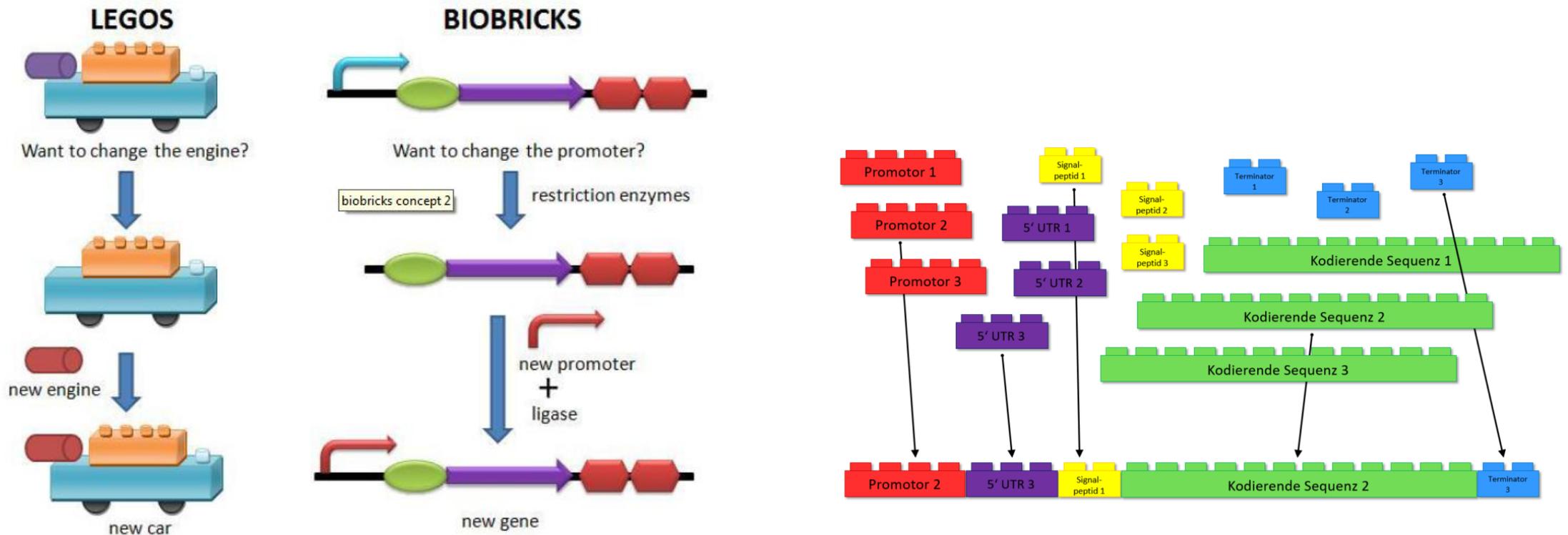
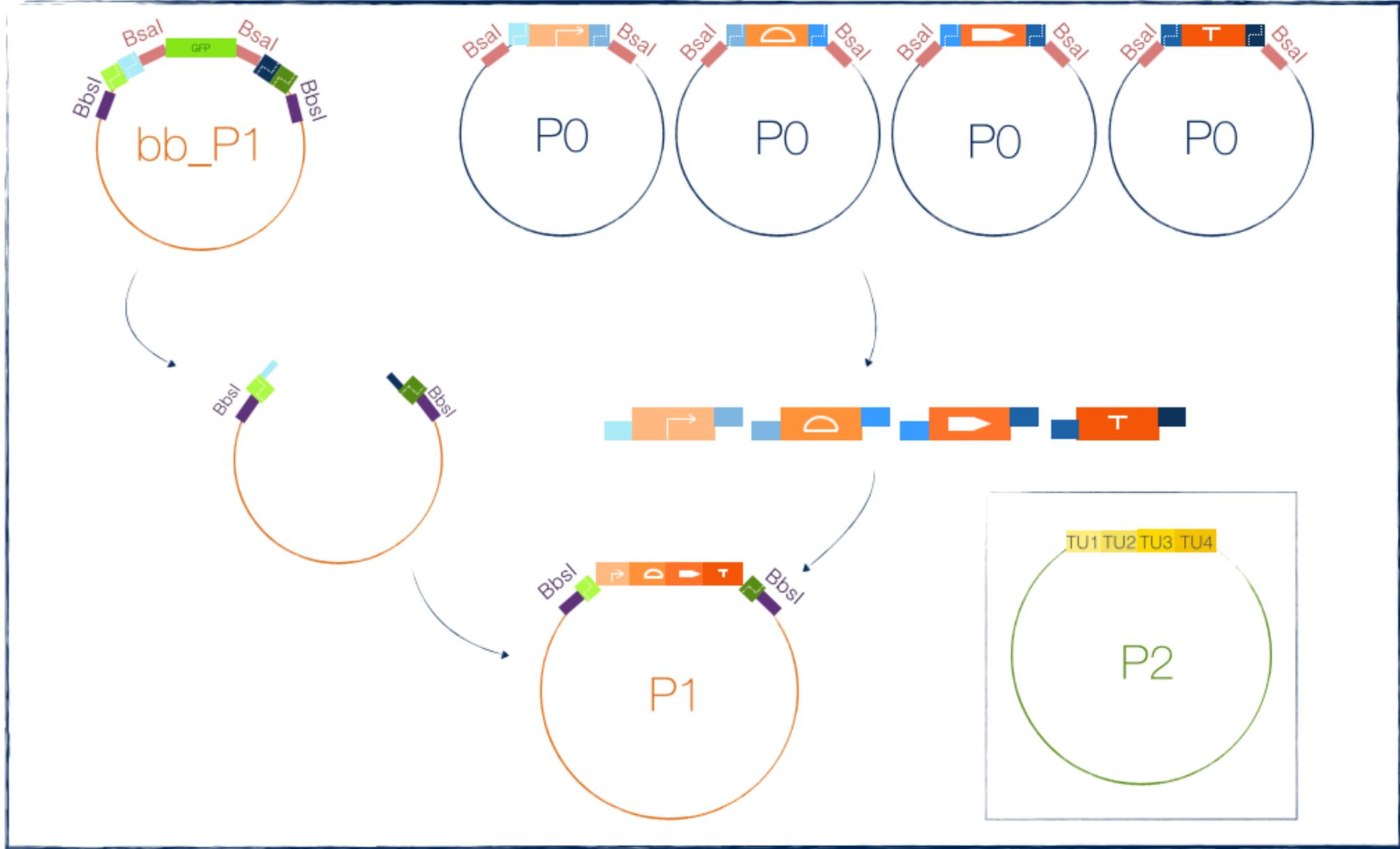
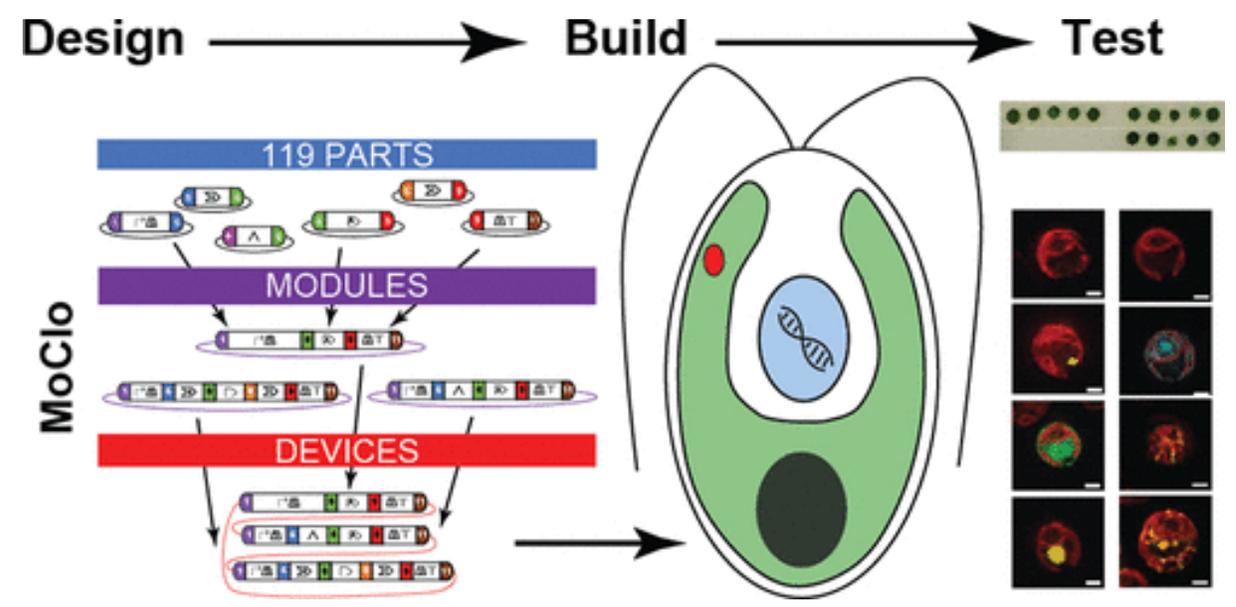


Figure2: The concept of interchangeable parts in biobricks



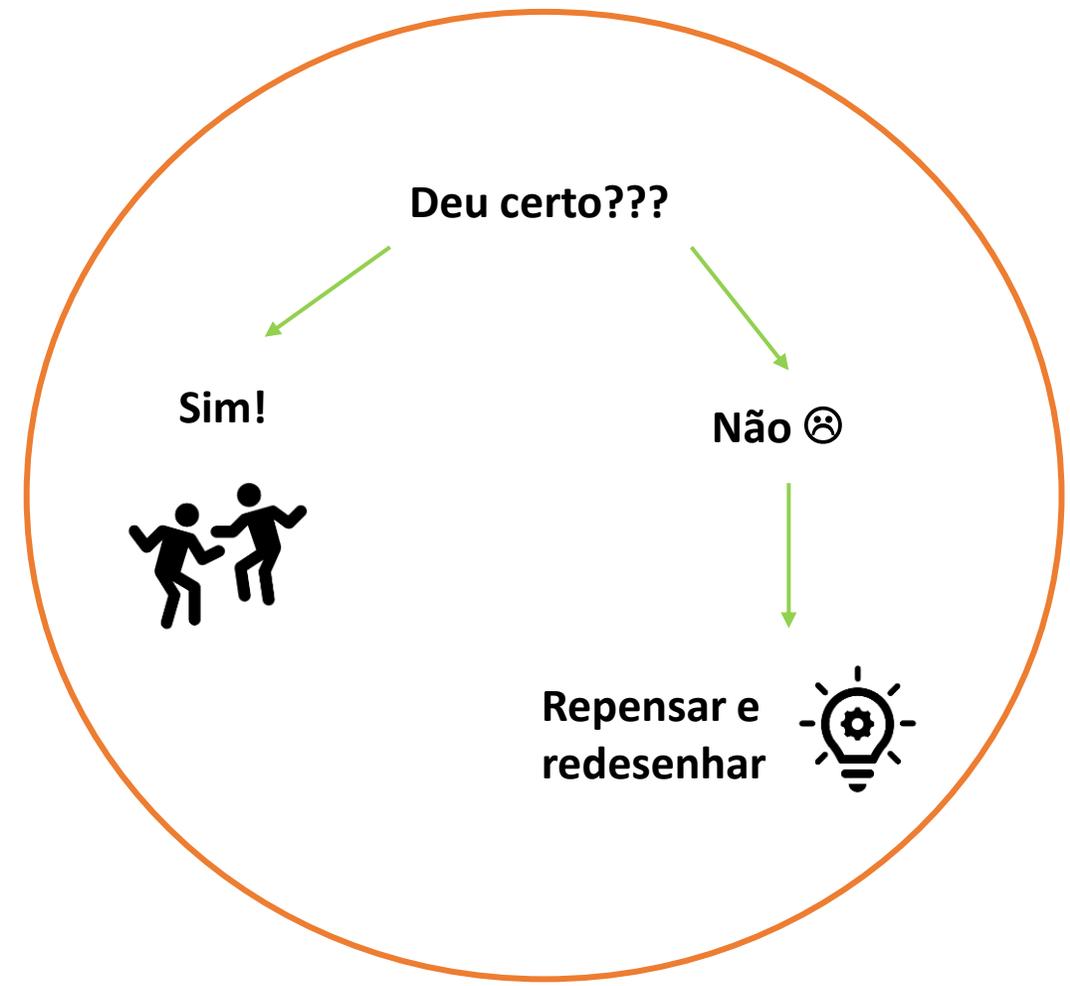
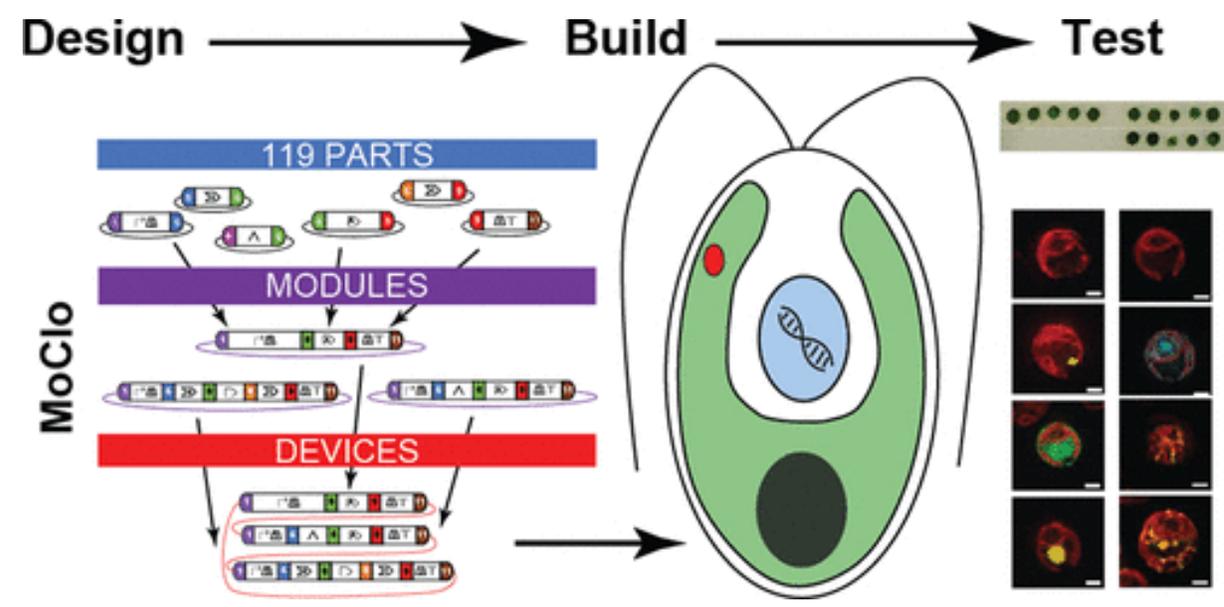
COMO CONSTRUIR MÁQUINAS BIOLÓGICAS?

7) Testar a construção



COMO CONSTRUIR MÁQUINAS BIOLÓGICAS?

7) Testar a construção

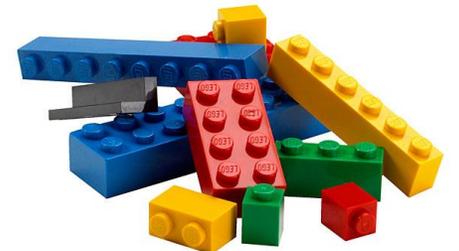


PILARES DA BIOLOGIA SINTÉTICA

- **Abstração** – Capacidade de olhar para um sistema complexo de uma maneira mais simples, isolando as variáveis para facilitar a compreensão.

- **Padronização** – Sequências encaixáveis e caracterizadas.

- **Modularidade** – Usar a mesma parte em diferentes circuitos



APLICAÇÕES NA AGRICULTURA



Biosensor baseado em plantas para detectar a presença de pesticidas organofosforados proibidos

Plantas contendo circuitos moleculares, que lhes permitirem se ajustar adequadamente ao seu ambiente (Poluentes ambientais, nutrientes, estresses abióticos e outros fatores ambientais).





THE C₄ RICE PROJECT

Driven by the Future Needs of Developing World Agriculture

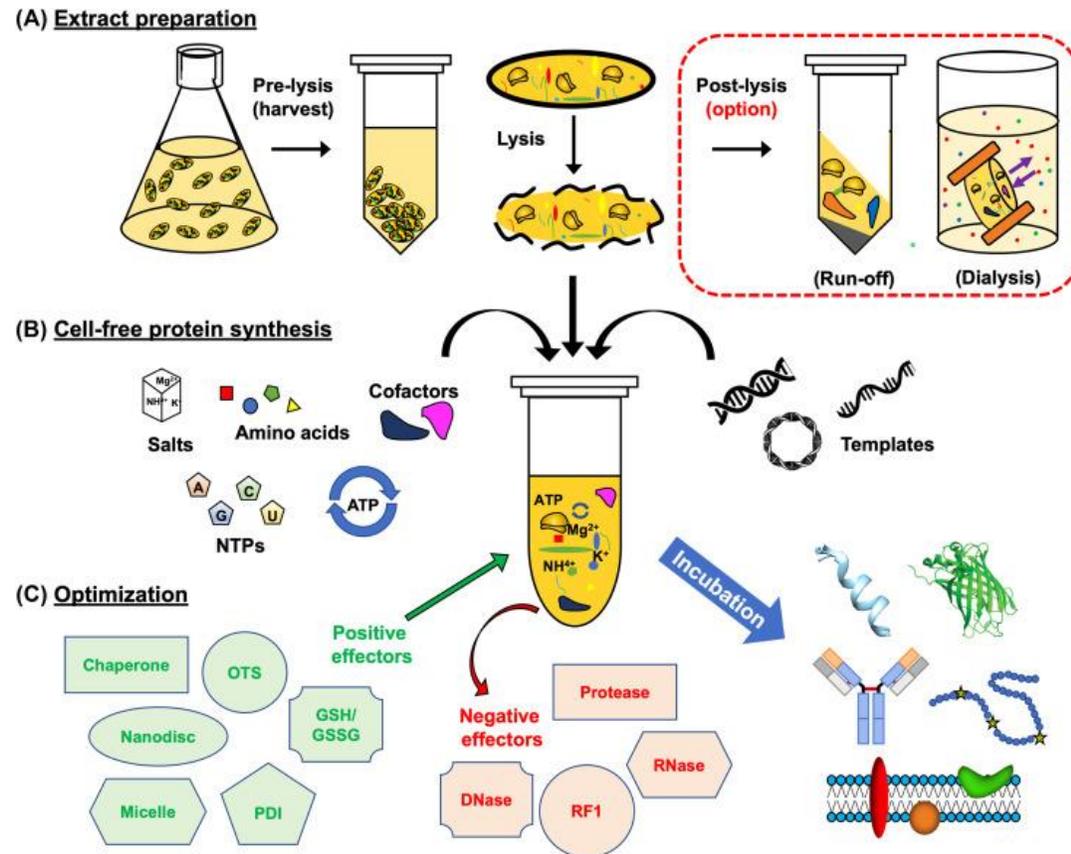


- O rendimento do arroz, uma gramínea do 'tipo C3', é limitado pela inerente ineficiência da fotossíntese C3.
- As espécies C₄, como o milho e o sorgo, são mais eficientes na assimilação de carbono do que as espécies C₃ e, além disso, apresentam maior eficiência no uso da água, melhor eficiência no uso do nitrogênio e tolerância a temperaturas mais altas.
- Hipótese - A eficiência fotossintética no arroz pode ser melhorada através da engenharia da maquinaria fotossintética para incluir componentes funcionais da via do tipo C₄.
-

TÉCNOLOGIA CELL-FREE

- Abordagens tecnológicas que envolvem a manipulação de componentes celulares sem a presença de células intactas.

- Síntese rápida de proteínas de interesse.
- Contornar o problema potencial de toxicidade nas células.
- Contornar as questões regulamentares das células geneticamente modificadas.



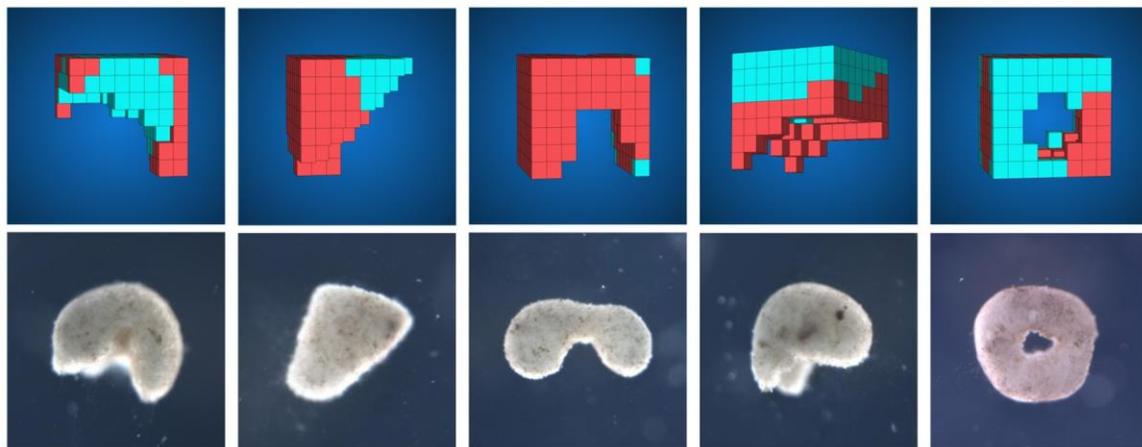
Desafios

- 1 - Estabilidade a longo prazo das reações.
- 2- Reprodução fiel de processos celulares complexos fora do ambiente celular.

XENOBOTS

Organismos vivos programáveis são promissores dentro da medicina regenerativa e da biologia

Eduardo Moraes Rego Reis fala sobre a realidade dos robôs biológicos, destacando que a aproximação da biologia molecular com a Inteligência Artificial é promissora para hipóteses que podem ser aplicadas na prática



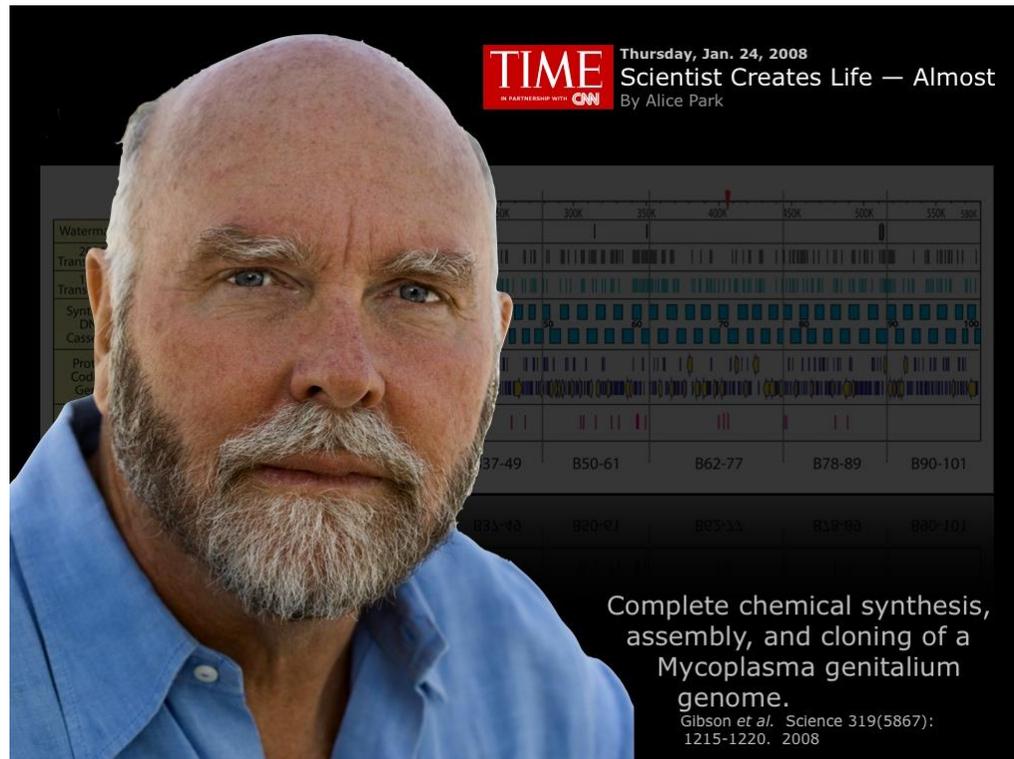
- “As simulações mostraram as melhores configurações para células do coração e da pele de sapos pensando em algumas funções, como locomoção e transporte, com diferentes níveis de sucesso”

- **Configurações capazes de se mover:** células da pele agiam como uma estrutura para manter o xenobot inteiro, enquanto as contrações das células do coração empurravam a máquina para a frente.
- Sobreviveram 1 semana sem adição de nutrientes.
- Genomicamente são 100% DNA de Sapos, mas não são sapos.

GENOMA MÍNIMO

- *Mycoplasma genitalium* (580.070 pb) – 477 genes:
 - ~120 genes não são necessários para o crescimento em lab
 - ~350 genes são necessários para o crescimento em lab

M. genitalium JCVI-1.0



<http://www.sciencemag.org/content/319/5/867/1215.abstract>

PRIMEIRO ORGANISMO SINTÉTICO



Creation of a Bacterial Cell Controlled by a Chemically Synthesized Genome

Daniel G. Gibson *et al.*
Science **329**, 52 (2010);
DOI: 10.1126/science.1190719

RESEARCH ARTICLE

Creation of a Bacterial Cell Controlled by a Chemically Synthesized Genome

Daniel G. Gibson,¹ John I. Glass,¹ Carole Lartigue,¹ Vladimir N. Noskov,¹ Ray-Yuan Chuang,¹ Mikkel A. Algire,¹ Gwynedd A. Benders,² Michael G. Montague,¹ Li Ma,¹ Monzia M. Moodie,¹ Chuck Merryman,¹ Sanjay Vashee,¹ Radha Krishnakumar,¹ Nacyra Assad-Garcia,¹ Cynthia Andrews-Pfannkoch,¹ Evgeniya A. Denisova,¹ Lei Young,¹ Zhi-Qing Qi,¹ Thomas H. Segall-Shapiro,¹ Christopher H. Calvey,¹ Prashanth P. Parmar,¹ Clyde A. Hutchison III,² Hamilton O. Smith,² J. Craig Venter^{1,2*}

Custo = 20 milhões de dólares
Next big Future - <http://nextbigfuture.com/>

COMO ACONTECEU?

Anunciada a criação da primeira linhagem de células viáveis de um ser vivo controlada por um genoma totalmente sintetizado em laboratório

Pesquisadores transformaram uma vida em outra, no caso uma bactéria *Mycoplasma capricolum* em outra, a *Mycoplasma mycoides*

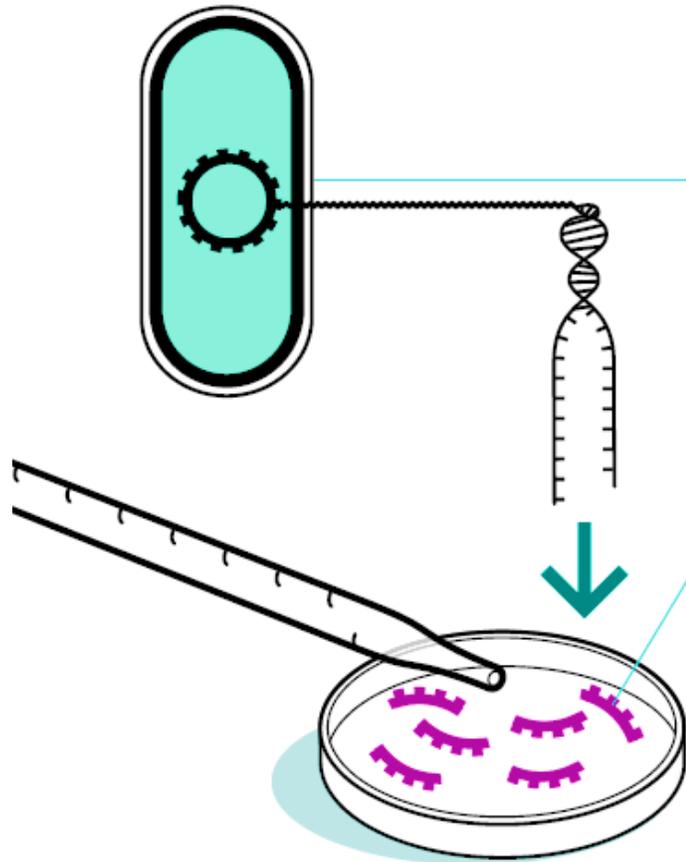
Grupo de Venter transferiu o genoma de uma bactéria em outra que assumiu o comportamento da primeira

Dois dias após o transplante, as células deixaram de conter o DNA original da *M. capricolum* (seja porque ele foi destruído ou diluído no processo de replicação) e apresentavam um único tipo de material genético, o cromossomo sintético da *M. mycoides*

Em toda essa operação, apenas 14 genes sem muita importância da *M. mycoides* se perderam ou foram anulados

O transplante de DNA passo a passo

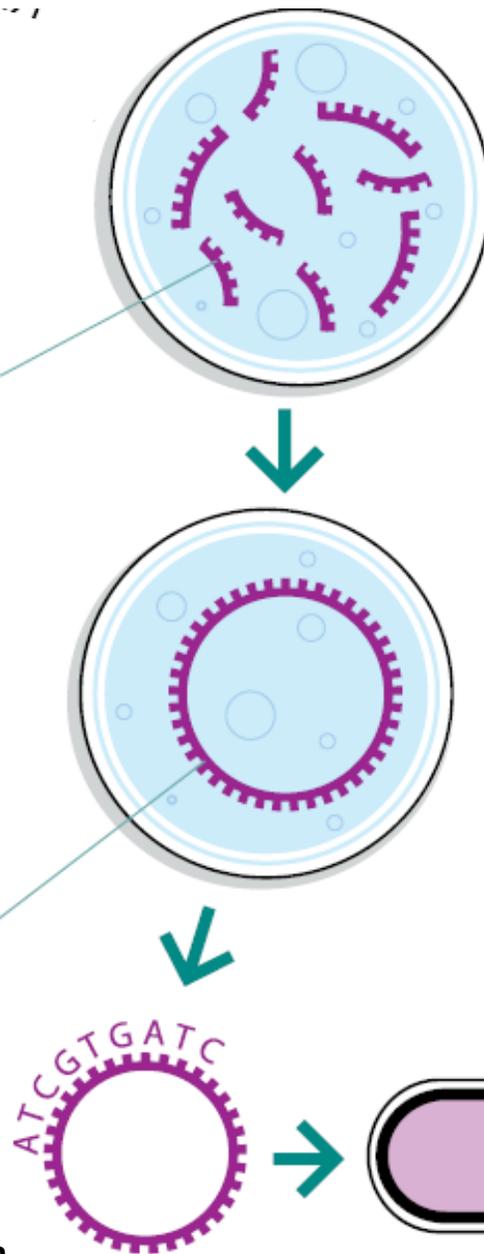
Como os cientistas fizeram a célula de uma bactéria ser controlada pelo genoma sintético de outra



- 1** Os pesquisadores do JCVI sequenciaram o genoma da bactéria *Mycoplasma mycoides*, um único cromossomo com cerca de 1,1 milhão de pares de bases, e armazenaram os dados num computador.
- 2** Em seguida, pediram a um laboratório que todo o DNA do organismo fosse sintetizado em 1.078 fragmentos de acordo com especificações bastante precisas. Denominado tecnicamente *cassette*, cada fragmento tinha 1.080 pares de bases e mais uma determinada sequência de 80 pares de bases em cada extremidade, útil para a remontagem de todo o genoma.

3

Quebrado em pedaços, o genoma sintético foi inserido na *Saccharomyces cerevisiae*. Dentro da levedura, os fragmentos de DNA foram unidos progressivamente na ordem correta com o auxílio do sistema genético do fungo. Primeiro, os cientistas juntaram todos os cassettes em trechos de DNA com 10 mil pares de bases. Depois, cada trecho foi ligado até originar 11 segmentos com 100 mil pares de bases. Por fim, os segmentos foram unidos e o cromossomo, remontado na célula de levedura.



4

O cromossomo foi então retirado da levedura e transplantado para células de uma bactéria semelhante, a *Mycoplasma capricolum*. As células receptoras aceitaram o DNA implantado, passaram a produzir as proteínas da *M. mycoides* e a se replicar normalmente. Nascia o primeiro organismo regido por um genoma sintético, a bactéria *M. mycoides* JCVI-syn1.0.

ORGANISMOS SINTÉTICOS..COMO FAZER..

Vida em 7 etapas

Entenda como a equipe do americano Craig Venter criou uma célula com DNA sintético

1. Não comece do zero

Ninguém sabe redigir um genoma inteiro a partir do zero. Por isso, os cientistas partiram de uma bactéria que já existe na natureza: a *M. mycoides*. Ela foi escolhida porque tem um genoma considerado pequeno, com "apenas" 1 milhão de letras (o genoma humano é 3 200 vezes maior).

2. Leia o DNA original

Os cientistas escaneiam o DNA dessa bactéria. Para fazer isso, aplicam enzimas que quebram o DNA em pequenos pedaços - que então são submetidos a um campo magnético, lidos com raio X e digitalizados. É a mesma técnica que Craig Venter usou para decifrar o genoma humano.

3. Altere no computador

Com a sequência genética digitalizada, os cientistas podem editá-la no computador - como se fosse um arquivo de Word. Eles rescreveram trechos do DNA, incluindo 4 mil novas letras genéticas - que incluem informações como o nome da empresa de Venter e trechos de livros.

4. Transforme em molécula

Hora de transformar o código digital em genoma. Para isso, os cientistas manipulam as 4 substâncias químicas que compõem o DNA na natureza - adenina (A), timina (T), guanina (G) e citosina (C). Cada uma delas corresponde a uma letra do genoma artificial - que é montado em blocos de 1 000 letras.

5. Insira num fungo

Os blocos são injetados em fungos, que começaram a juntá-los em pedaços maiores. Os fungos fazem essas emendas aleatoriamente, sem critério. Por isso, os cientistas precisam tentar o procedimento muitas vezes - até que, por pura tentativa e erro, os fungos remontem os pedaços de DNA na ordem correta.

6. Repita o processo

Conforme os fungos vão acertando a montagem do DNA, o genoma vai ficando maior. Primeiro, eles juntaram blocos de 1 000 letras genéticas em grupos de 10 mil. Depois, 100 mil. Por fim, 1 milhão de letras - elas formam um cromossomo sintético que contém o DNA criado pelos cientistas no computador.

7. Implante numa célula

O cromossomo é injetado num ser vivo - no caso, uma bactéria chamada *M. capricolum*. Sob o controle do genoma artificial, essa bactéria se transforma numa nova espécie, cujas características são definidas pelo DNA artificial. Está criada uma forma de vida sintética.



Mãos a obra

MAS PARA QUE TUDO ISSO?

Produção de combustíveis

Os organismos sintéticos poderiam ser manipulados para produzir hidrogênio - um combustível altamente eficiente, e cuja queima não polui o ambiente. Na natureza, já existem genes capazes de fazer isso: estão presentes em determinadas bactérias marinhas, que são capazes de "comer" metano e excretar hidrogênio como resultado.

Cura de doenças

A ideia é conceber bactérias que ajudem a combater certos tipos de doenças, como câncer e infecções resistentes a antibióticos. Bastaria criar um microorganismo programado para se alimentar de determinada proteína (que só exista nas células que você deseja destruir, como as cancerosas) e injetá-lo no organismo.

Combate ao aquecimento global

O processo de fotossíntese é a transformação de água, CO₂ e luz em oxigênio e açúcar. Com a engenharia genética, talvez seja possível criar micróbios que façam a fotossíntese com mais eficiência do que as plantas - e removam mais CO₂ da atmosfera, reduzindo o efeito estufa e freando o aquecimento global.

Fim do lixo

Os lixões e os oceanos do mundo estão cheios de plástico - que levará centenas de milhares de anos para se degradar e desaparecer. Mas na natureza já existe uma bactéria, a Flavobacterium, capaz de comer um plástico: náilon. A biologia sintética poderia aperfeiçoar essa capacidade, criando um micro-organismo que pudesse digerir todos os tipos de plástico.

HÁ RISCOS?



Acidente biológico

Se as bactérias comedoras de CO₂ escapassem do controle, por exemplo, e consumissem todo esse gás da atmosfera terrestre, a temperatura no planeta cairia para -18 C. Os cientistas dizem que os organismos artificiais serão propositalmente frágeis, incapazes de sobreviver fora de determinadas condições. Mas sempre existe a possibilidade de que eles sofram mutações - e se transformem em pragas incontroláveis.

Guerra e terrorismo

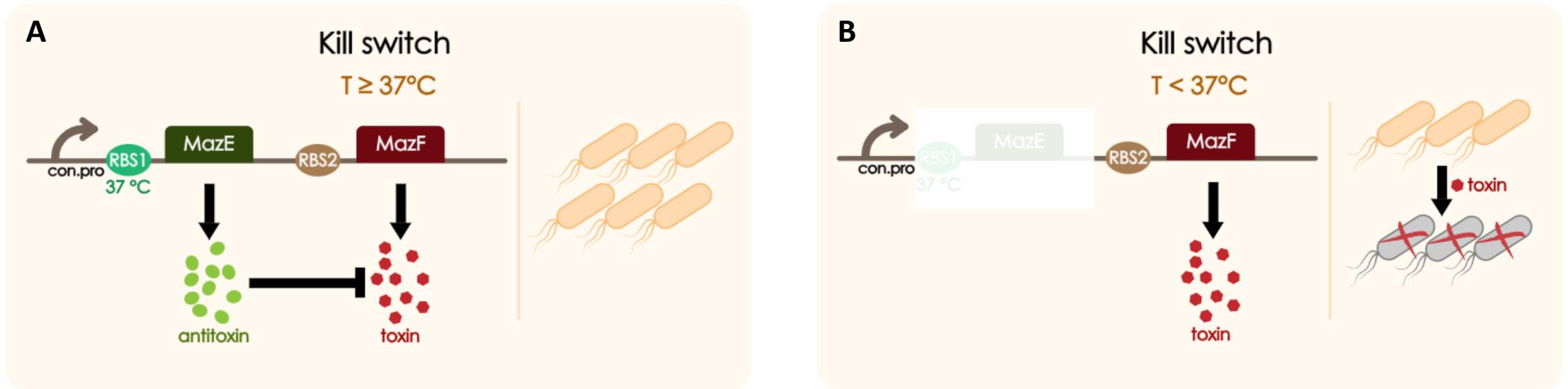
Lembra dos ataques terroristas com a bactéria antraz, que assustaram os EUA em 2001? Com a biologia sintética, será possível aumentar a potência de armas como essa (desenvolvendo um antraz mais facilmente transmissível, por exemplo). Ou então criar vírus artificiais altamente letais e resistentes, contra os quais não exista nenhum tipo de tratamento conhecido.

BIOSSEGURANÇA

- **Necessário rigor na contenção física, biológica e geográfica.**
- **Avaliação, independente do risco ambiental, para cada produto.**
- **Kill switch – mecanismo de autodestruição desencadeado por condições específicas programadas (Ex. Radiação solar, alteração de temperatura, presença de algum composto).**



Sistema toxina-antitoxina e um termômetro de RNA NoChill-06



Interruptor de interrupção MazF/MazE acionado a frio. A) sob temperatura corporal (37 °C) e B) fora do corpo (30 °C)

THE REGULATION OF SYNTHETIC BIOLOGY
A GUIDE TO UNITED STATES AND EUROPEAN UNION REGULATIONS, RULES AND GUIDELINES
SynBERC and iGEM Version 9.1 January 10, 2012

**Shlomiya Bar-Yam, Jennifer Byers-Corbin, Rocco Casagrande, Florentine Eichler, Allen Lin, Martin Oesterreicher,
Pernilla Regardh, R. Donald Turlington, and Kenneth A. Oye¹**

INTRODUCTION	01
UNITED STATES FEDERAL REGULATIONS.....	02
NIH Guidelines	02
EPA Regulations	05
USDA APHIS Regulations	07
FDA Regulations	09
Commerce Department Regulations	09
Select Agent Rules	11
HHS Synthesis Screening Guidance for Providers of Synthetic Double Stranded DNA	12
EUROPEAN UNION DIRECTIVES AND REGULATIONS.....	14
Directive 90/219/EEC on Contained Use of GMMs	14
Directive 2001/18/EC on Deliberate Release into the Environment of GMMs	17
Regulation 1829/2003 on Genetically Modified Food and Feed	17
Regulation 1830/2003 Concerning Traceability and Labeling of GMOs	19
Regulation 428/2009 on Export Controls of Dual-Use Goods	20
European Agreement Concerning International Carriage of Dangerous Goods by Road	22
EU Legal Framework Concerning the Prevention of Bio-Terrorist Acts	22
Directive 2004/35/EC on Environmental Liability	23
INTERNATIONAL TREATIES AND AGREEMENTS.....	25
Convention on Biological Diversity	25
Cartagena Protocol and Nagoya-Kuala Lumpur Supplementary Protocol on Liability	25
UN Bioweapons Convention	26
The Australia Group Guidelines	26
CONCLUSIONS -- CURRENT COVERAGE AND FUTURE PROSPECTS.....	28



- **A competição internacional de engenharia de sistemas biológicos.**
- Criada em 2003 pelo MIT.
- Encontro anual de equipes de universidades de todo o mundo, que apresentam seus projetos de Biologia sintética.
- O objetivo das equipes - criação de dispositivos biológicos inovadores que permitam a solução de problemas humanos relevantes.
- A competição era exclusivamente para alunos de graduação, mas hoje conta com divisões especiais para alunos do ensino médio, empreendedores e programadores de software.



Climate Crisis



Environment



Conservation



Food & Nutrition



Diagnostics



Therapeutics



Foundational
Advance



Biomanufacturing



Software & A.I.



Bioremediation



Agriculture



Space



Local people solving local problems all over the world

Through iGEM, people are creating synthetic biology ecosystems around the world. There are hundreds of success stories originating at iGEM.

iGEM TEAMS SINCE 2004

1 817

ASIA

1 259

NORTH AMERICA

1 059

EUROPE

192

LATIN AMERICA

30

AFRICA



- Cada equipe recebe em sua universidade um kit com partes de DNA padronizadas.
 - Os alunos terão alguns meses para construir um material genético inédito e capaz de solucionar o problema que eles inicialmente propuseram.
 - As equipes precisam criar uma página na internet do tipo Wiki para registrar o passo-a-passo do projeto, utilizando uma linguagem acessível para todos os públicos.
-
- Ao final do ano os alunos deverão participar do encontro regional do iGEM, chamado Jamboree, que irá selecionar os finalistas para a grande competição no MIT.
 - Ao final da competição, dependendo do quanto a equipe conseguir realizar, poderá receber medalha de ouro, prata e bronze.

Registry of Standard Biological Parts

Catalog

- Browse [collections](#)
- Browse [well documented parts](#) • [frequently used parts](#)
- Browse [parts by type](#) • [devices by type](#)
- Browse parts and devices [by function](#) • [by chassis](#) • [by standard](#) • or [by contributor](#)
- Browse [chassis](#)
- Browse [user-supplied catalog pages](#) - these pages have not undergone curation by the Registry but have been made by t

Browse parts by type

Catalog	List
	 Promoters (2) : A promoter is a DNA sequence that tends to recruit transcriptional machinery and lead to transcription of the downstream DNA sequence.
	 Ribosome Binding Site/about (2) : A ribosome binding site (RBS) is an RNA sequence found in mRNA to which ribosomes can bind and initiate translation.
	 Protein domains (2) : Protein domains are portions of proteins cloned in frame with other proteins domains to make up a protein coding sequence. Some protein domains might change the protein's location, alter its degradation rate, target the protein for cleavage, or enable it to be readily purified.
	 Protein coding sequences (2) : Protein coding sequences encode the amino acid sequence of a particular protein. Note that some protein coding sequences only encode a protein domain or half a protein. Others encode a full-length protein from start codon to stop codon. Coding sequences for gene expression reporters such as LacZ and GFP are also included here.
	Translational units (2) : Translational units are composed of a ribosome binding site and a protein coding sequence. They begin at the site of translational initiation, the RBS, and end at the site of translational termination, the stop codon.
	 Terminators (2) : A terminator is an RNA sequence that usually occurs at the end of a gene or operon mRNA and causes transcription to stop.

Browse parts and devices by function

*This section replaces the previous **Featured parts** pages.*



[Biosafety](#): Parts and devices improving biological containment.



[Biosynthesis](#): Parts involved in the production or degradation of chemicals and metabolites are listed here.



[Cell-cell signaling and quorum sensing](#): Parts involved in intercellular signaling and quorum sensing between bacteria.



[Cell death](#): Parts involved in killing cells.



[Coliroid](#): Parts involved in taking a bacterial photograph.



[Conjugation](#): Parts involved in DNA conjugation between bacteria.



[Motility and chemotaxis](#): Parts involved in motility or chemotaxis of cells.



[Odor production and sensing](#): Parts the produce or sense odorants.



[DNA recombination](#): Parts involved in DNA recombination.



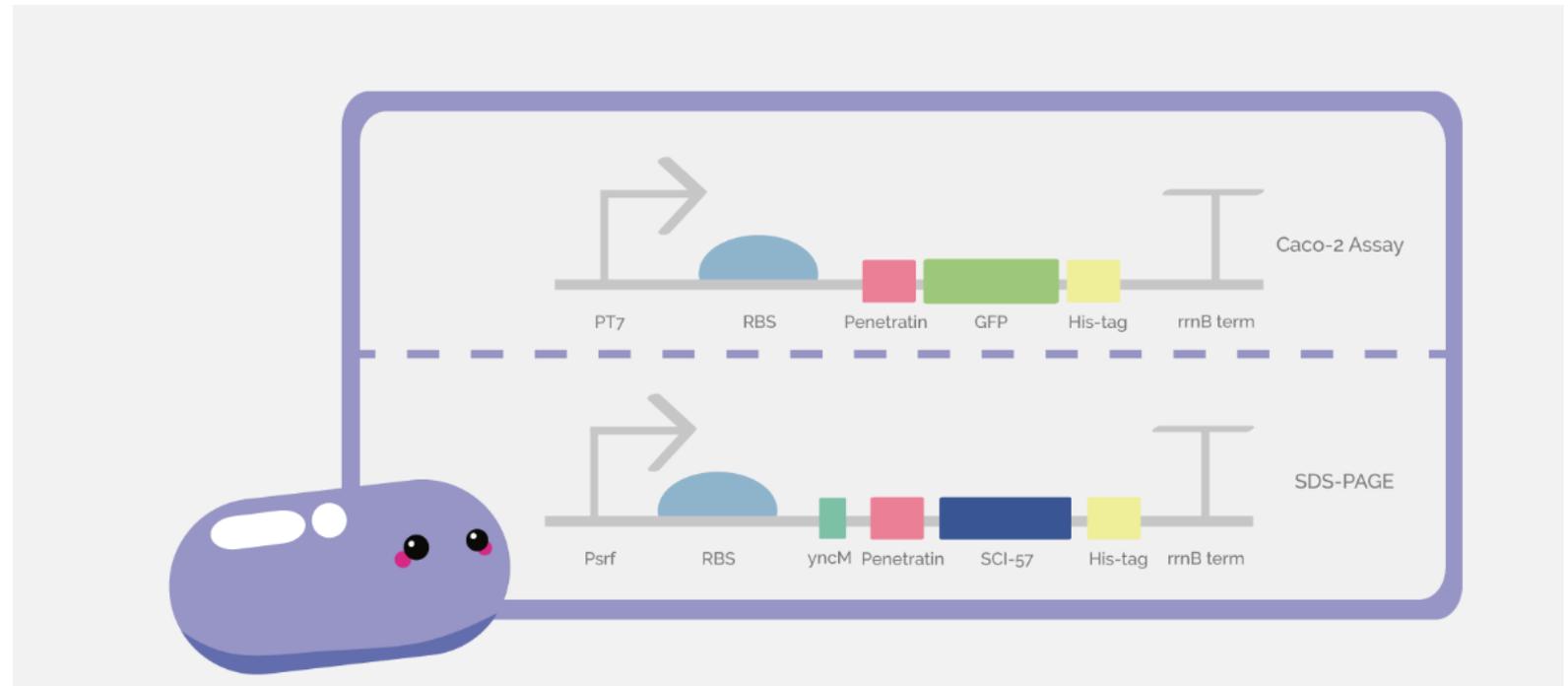
[Viral vectors](#): Parts involved in the production and modification of Viral vectors.

TIMES IGEM BRASILEIROS

- Utilização de bactérias probióticas geneticamente modificadas para a produção controlada de insulina, diretamente no intestino do portador de diabetes tip 1.



Unesp, 2018



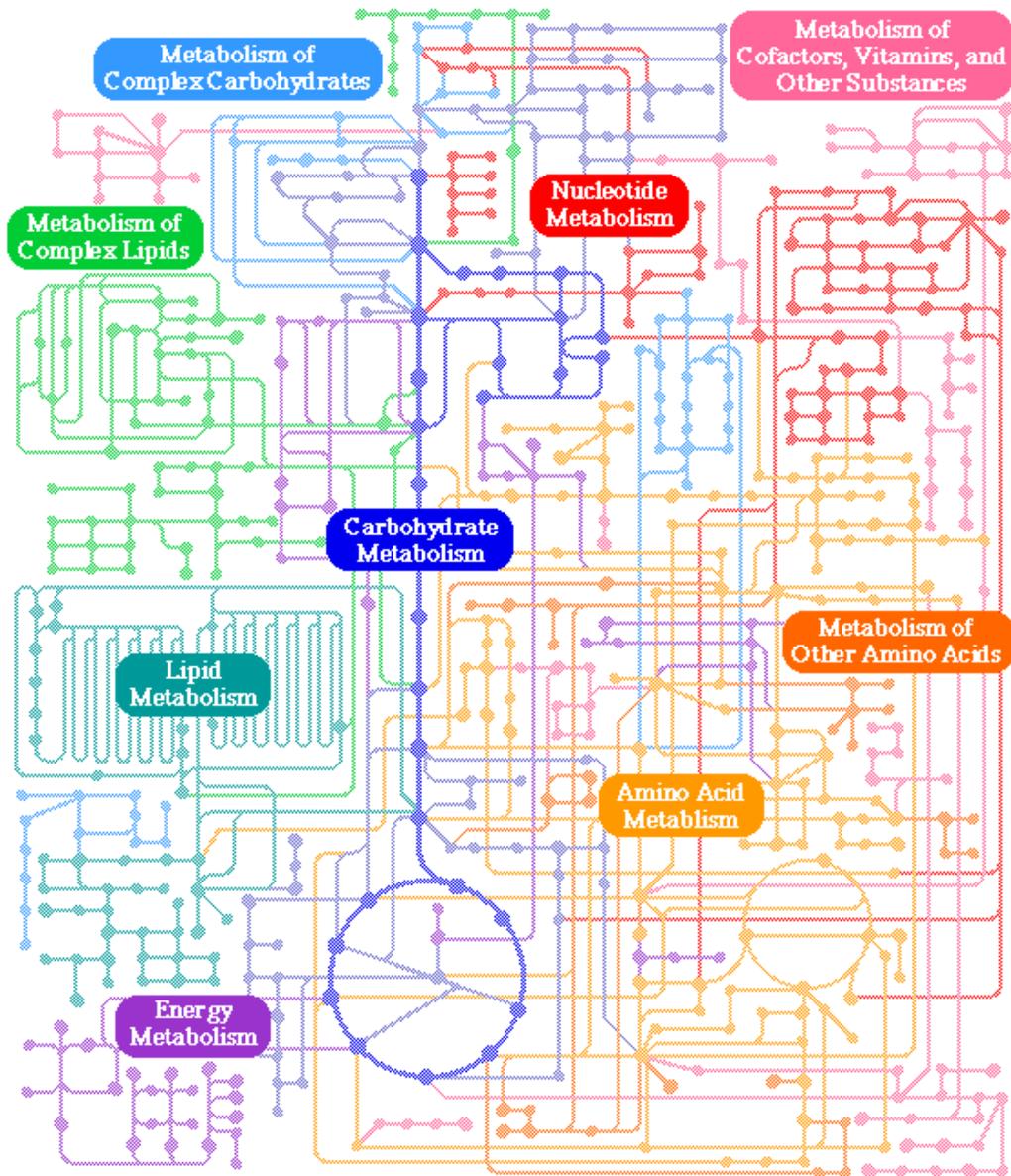


Foi desenvolvida uma planta transgênica com uma enzima capaz de metabolizar os neonicotinóides do seu pólen

- Um promotor de pólen específico , para evitar tecidos fora do alvo.
- Um peptídeo LP4/2A , para permitir a expressão de dois genes sob o mesmo promotor.
- Uma enzima CYP6G1 , para metabolizar o pesticida Imidaclopride.
- Um gene repórter GUS , para testes de expressão qualitativos e quantitativos.



Figure 1. Schematic representation of the Let.it.bee.'s genetic circuit.



Mapa Metabólico - Sumariza a interdependência e coordenação das reações anabólicas e catabólicas

Mais de **1000 reações** podem ocorrer ao mesmo tempo em *E. coli*

SITES INTERESSANTES E VÍDEOS...

THE SYNTHETIC BIOLOGY PROJECT (<http://www.synbioproject.org/about/>)

SYNBIOSAFE (<http://www.synbiosafe.eu/>)

JCVI (<http://www.jcvi.org/cms/research/groups/synthetic-biology-bioenergy/>)

<https://www.youtube.com/watch?v=UWXVgwHYtEM>

<https://www.youtube.com/watch?v=-gnTr7itDHc>

https://www.youtube.com/watch?v=1YIME6_VsXk



ESTUDO DIRIGIDO

1. Viés de codons
2. O que são Chassis
3. Partes, dispositivos e sistemas em biologia sintética
4. Pilares da Biologia Sintética
5. Importância de estudar o Genoma mínimo

Leitura recomendada

Silva & Paulillo, Biologia Sintética: possibilidades e desafios, **Revista Biologia**, 14(1):33-39, 2015.

Moe-Behrens et al. Preparing synthetic biology for the world. **Frontiers in Microbiology**, 4: 5, 2013.

Pivetta, M. A síntese da criação. **Pesquisa FAPESP** , 172, 2010.

