



CENTRO UNIVERSITÁRIO DE BRASÍLIA - UniCEUB  
FACULDADE DE CIÊNCIAS DA EDUCAÇÃO E SAÚDE – FACES  
CURSO DE BIOMEDICINA

**JÉSSICA FERNANDES DE SOUSA**

**ORGANISMOS GENETICAMENTE MODIFICADOS  
E SUAS APLICAÇÕES NA PRODUÇÃO DE INSUMOS  
FARMACÊUTICOS E BIOTECNOLÓGICOS**

Trabalho de conclusão de curso, apresentado em formato de artigo científico, ao UniCEUB, como requisito parcial para a conclusão do Curso de Bacharelado em Biomedicina.

Orientador: Prof. Dr. Paulo Queiroz

BRASÍLIA  
Dezembro/2015

## **Organismos geneticamente modificados e suas aplicações na produção de insumos biotecnológicos e farmacêuticos.**

Jéssica Fernandes de Sousa<sup>1</sup>  
Paulo Roberto Martins Queiroz<sup>2</sup>

### **Resumo**

Os organismos geneticamente modificados sofrem algum tipo de transformação genética podendo ser adicionado ou removido algum gene ou fragmento de DNA. Este fragmento que é inserido pode ser intra ou interespecífico, definindo assim o OGM como um transgênico. O objetivo deste trabalho foi identificar a atuação do homem na promoção da seleção sintética, compreender como é realizada a transformação e principais insumos produzidos de forma direta ou indireta e sua regulamentação no Brasil. Essa tecnologia surgiu a partir do conhecimento do homem sobre a hereditariedade e também sobre o conhecimento do DNA, para melhoramento de cultivares, produção de insumos, aumento de valor nutritivo de alimentos. A biotecnologia existe desde o primórdio, sendo muito utilizada para a fermentação de bebidas e alimentos, e atualmente através de cultura de tecidos e engenharia genética.

**Palavras-chave:** Organismos geneticamente modificados, biotecnologia, insumos farmacêuticos, transgênico e insumos biotecnológicos.

### **Genetically modified organisms and their applications in the production of biotech and pharmaceutical component.**

### **Abstract**

Genetically modified organisms suffer some kind of genetic transformation that can be added or removed a gene or DNA fragment. This insertion can be intra or interspecific, thus defining the GMO as a transgenic. The objective of this study was to identify the role of men in promoting synthetic selection, understand how the transformation is performed and main components produced directly or indirectly by GMOs and its regulation in Brazil. This technology emerged from the man's knowledge of heredity and also on the knowledge of DNA, for breeding cultivars, production inputs, increased nutritional value of food. Biotechnology is from the primordia, commonly used for the fermentation of food and beverage, and currently through tissue culture and genetic engineering.

**Keywords:** Genetically modified organisms, biotechnology, pharmaceutical components, transgenic e biotech components.

---

<sup>1</sup>Graduanda do curso de Biomedicina no Centro Universitário de Brasília – UniCEUB.

<sup>2</sup>Biólogo, mestre em Biologia Molecular e doutor em Biologia Animal – UNB, pós-doutor em Genética molecular, professor de Biomedicina no Centro Universitário de Brasília – UniCEUB.

## 1. INTRODUÇÃO

Organismos geneticamente modificados (OGM's) são organismos de organização e estrutura biológica que são compostos por ácidos desoxirribonucleicos ou ácidos ribonucleicos, estes sofrem alterações de origem genética a partir de técnicas de engenharia genética para acréscimo ou remoção de uma nova característica fenotípica e/ou genotípica. Este conjunto de técnicas permitem alterações na conformação dos organismos para o surgimento de novas características que antes não eram presentes em determinada espécie, como tornar um organismo maior, obter maior teor de açúcar, obter coloração diferente, aumentar o valor nutritivo de alimentos, assim como, estabelecer que este determinado organismo sintetize substâncias que antes não eram produzidas (MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, 2015).

Entende-se por definição que transgênico é o OGM que recebeu material genético intraespécie (da mesma espécie) ou interespécie (de espécies diferentes), passando assim a possuir genes que antes não estavam presentes em seu genoma; portanto, transgênico é a designação dada para organismos que tiveram adição de genes ou fragmentos de DNA (ANDRADE, 2003; TORRES *et al.*, 2000; GANDER *et al.*, 1997). Sendo assim, transgênico e OGM não são sinônimos. Transgênico é o nome do “produto” de uma modificação genética na qual ocorreu a inserção do DNA de outro organismo para a gênese de uma característica, já organismo geneticamente modificado é qualquer organismo que tenha sofrido alguma modificação onde não houve a adição do transgene (CGM, 2009).

A engenharia genética se tornou muito importante, pois durante anos o homem tentou por meio de cruzamentos intraespecífico obter características na prole que fossem superiores à de seu gerador; todavia, esse método de melhoramento genético tinha muitas limitações como a incompatibilidade sexual (ausência do reconhecimento molecular sexual entre o par) e a ligação gênica (quando dois genes estão no mesmo cromossomo, um próximo ao outro e eles obrigatoriamente são herdados juntos, não ocorre segregação independente) (ANDRADE, 2003). Essa técnica de transformação permitiu a transferência do gene de um organismo para o outro, mesmo quando há uma grande distância entre as espécies e não sendo possível este cruzamento da forma natural (COSTA *et al.*, 2011).

Consoante ao surgimento da transformação genética, surgiram pesquisas relacionadas a áreas como agricultura, pecuária e indústria farmacêutica, sendo esta

última uma esfera que muito se utiliza deste procedimento. Em 1982, surgiu no âmbito farmacêutico/biotecnológico o primeiro produto derivado de um organismo geneticamente modificado, a insulina, um hormônio humano muito importante na regulação do controle global do metabolismo animal, sendo que anterior a sua síntese em bactérias, este hormônio era coletado de porcos e bois, o que gerava alergias e intolerância no organismo humano, além do risco das doenças priônicas (BRUNO, 2014).

No ramo agropecuário, as pesquisas relacionadas à engenharia genética sofreram um grande avanço, pois muitos foram os benefícios da aplicação tecnológica ao melhoramento dos cultivos, dentre eles a redução nos custos da produção dos cultivares, redução na utilização de agrotóxicos, aumento do nível nutricional dos alimentos e resistência a doenças; assim como animais também tiveram sua susceptibilidade a doenças diminuída, a qualidade de sua carne e derivados melhorados (PHILLIPS, 2008). O desenvolvimento de plantas transgênicas surgiu no mercado a partir da década de 80, sendo que em 1986 já existiam milhares de hectares nos Estados Unidos e França para testes, a primeira planta a ser testada foi o tabaco. Após uma década da realização de testes, já havia 56 tipos de plantas transgênicas sendo cultivadas para fins de pesquisa; já a comercialização destes produtos começou em 1996, sendo que as principais características desejadas eram a resistência a agrotóxicos e a insetos (COSTA *et al.*, 2011). Já no ano de 2003, as pesquisas englobaram cereais, fibras, frutas, óleos e hortaliças (MONQUERO, 2005). Em 2005 já existiam lavouras com plantas transgênicas em 90 milhões de hectares em 21 países (COSTA *et al.*, 2011).

Junto ao crescimento de pesquisas e a procura pelo aperfeiçoamento destas tecnologias aplicadas a transformação genética, cresceram grandes riscos; apesar do conhecimento relativo aos cruzamentos e transformações naturais realizados por algumas espécies, não se sabe ao certo se há severas consequências na transformação a partir da engenharia genética como alterações de metabolismo e resposta ao ambiente (PHILLIPS, 2008). Em vista deste crescimento da utilização de processos tecnológicos para avanços em campos como o da biotecnologia, é importante que exista a avaliação dos riscos ao meio ambiente e ao homem, para que se possa, de forma segura, utilizar os organismos geneticamente modificados e seus derivados. Algumas hipóteses são referentes aos riscos desconhecidos provocados pelos OGM's, como ameaças a saúde humana e ambiental, podendo desenvolver possíveis reações alérgicas, toxicidade no homem e na natureza, poluição genética e o possível prejuízo a organismos não-alvos da

transformação; para tanto, a *Food and Agriculture Organization* (FAO) definiu o que seria a biossegurança quanto ao consumo de OGM's, como sendo o uso sadio e sustentável em termos de meio ambiente de produtos biotecnológicos e suas aplicações para a saúde humana, biodiversidade e sustentabilidade ambiental, como suporte no aumento da segurança alimentar global (COSTA *et al.*, 2011).

Em torno dos conhecimentos adquiridos a respeito dos organismos geneticamente modificados, seus benefícios e suas hipóteses referentes à sua maleficência, este trabalho teve como objetivo realizar uma revisão bibliográfica a respeito dos conceitos associados à engenharia genética, suas vantagens, desvantagens e normas para o emprego na produção de insumos biotecnológicos e farmacêuticos.

## 2. METODOLOGIA

Refere-se a uma pesquisa básica de revisão bibliográfica e documental no formato narrativo. De acordo com Rother (2007, p.1) artigos de revisão narrativas são basicamente, utilização de publicações em livros, revistas impressas e eletrônicas sob a perspectiva do autor. Para a realização dessa pesquisa foram utilizadas as bases de dados do SciELO (*Scientific Eletronic Library Online*), LILACS (Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde), PubMed (*Public Medline*) e Google Academics, para o levantamento de normas e regulamentações foram utilizadas informações da CTNBio (Comissão Técnica Nacional de Biossegurança) e FAO (*Food and Agriculture Organization of the United Nations*), como também consulta ao acervo disponível na biblioteca do Centro Universitário de Brasília – UniCEUB.

Para a busca dos artigos foram utilizadas as palavras-chave: Organismos geneticamente modificados, biotecnologia, insumos farmacêuticos, transgênico e insumos biotecnológicos, normatização de OGM, bem como as mesmas no idioma inglês. As palavras-chave foram usadas individualmente na busca das informações, como também em combinações de duas a duas. Foram encontrados 82 artigos, sendo que destes foram utilizados apenas 27 artigos.

Como critério para a seleção do material foi utilizado o período de publicação na faixa de 15 anos, do ano 2000 até 2015, sendo que também foram usados artigos clássicos que são mais antigos, livros, sites institucionais e publicações online.

### 3. DESENVOLVIMENTO

De acordo com Ridley (2004, p. 28)

“Evolução significa mudança, mudança na forma e no comportamento dos organismos ao longo das gerações. As formas dos organismos, em todos os níveis, desde sequências de DNA até a morfologia macroscópica e o comportamento social, podem ser modificados a partir daquelas dos seus ancestrais durante a evolução.”

A seleção natural é explicada por Darwin, quando o mesmo foi a Galápagos e observou todos os animais de todas as ilhas e comparou suas características individuais e em conjunto. A princípio ele acreditava que todos os animais eram da mesma espécie e então com suas comparações ele passou a acreditar em um ancestral em comum. Ele chegou a acreditar na teoria de Lamarck, porém ela não explica a adaptação das espécies. A partir de uma leitura do Ensaio sobre Populações de Malthus ele vislumbra que, caracteres favoráveis permanecem passando de geração para geração e as desfavoráveis são perdidas com o tempo. Houve muitas objeções à teoria de seleção natural, principalmente porque alguns pensadores acreditavam que a seleção ocorria de forma aleatória e sem explicação. Entretanto alguns biólogos procuravam aliar essa teoria a outros processos como a “mutação dirigida”; foi então neste período de 1900 que redescobriam a teoria Mendeliana de hereditariedade (RIDLEY, 2004). Já o Neodarwinismo surgiu a partir da sintetização da seleção natural ao conhecimento das bases genéticas, que foram possibilitadas a partir do estudo da teoria de Mendel. Essa conciliação explica a evolução das espécies a partir de micromutações causadas por variações hereditárias e por ações do ambiente que ditavam a frequência dos alelos (BORGES-OSÓRIO *et al.*, 2013).

O neodarwinismo foi muito importante para o atual conhecimento a respeito da genética, ele abriu portas para a identificação do DNA, o conhecimento dos genes, a decodificação do DNA para produção de proteínas e permite observar as variações genéticas provocadas por mutações no código genético; estes estudos também permitiram o conhecimento da seleção artificial, que significa o processo capaz de provocar uma mudança evolutiva em uma geração selecionada. À princípio, essa seleção era feita a partir da interferência do homem escolhendo as espécies com as

variações que mais lhe agradavam, preservava essa espécie e então observava seu acúmulo na natureza (MARTINS, 2012; RIDLEY, 2004).

Há indícios de que quando continuada de forma prolongada, pode causar transformações drásticas, além de quase todas as plantações agrícolas e animais domésticos serem provenientes do emprego dessa seleção pelos antepassados humanos. As comprovações demonstram que esta seleção pode causar grandes variações, podendo inclusive gerar novos fenótipos, dando início a novas espécies (RIDLEY, 2004).

Pela vontade de analisar de forma mais aprofundada o código genético e suas variações, geneticistas moleculares desenvolveram em 1970 a técnica do DNA recombinante, permitindo assim a clonagem de genes para o estudo (BRUNO, 2014).

### **3.1 Biotecnologia e DNA recombinante**

A biotecnologia surgiu antes mesmo que esse termo fosse conhecido, a partir da fermentação de bebidas e alguns alimentos como pão. Depois do estudo mais aprofundado da biologia, DNA e genes, surgiu o termo biotecnologia. Atualmente a biotecnologia engloba não apenas técnicas mais tradicionais e antigas como a fermentação, como também procedimentos mais atuais como a cultura de tecidos em laboratório, análise de DNA, sequenciamento de genoma e engenharia genética. O uso de técnicas mais atuais é muito aplicado para o aprimoramento dos cultivares, melhoramento do valor nutricional de alimentos, aumento da produtividade com diminuição do valor de investimento e aplicação na indústria farmacêutica. Desde o início da vida humana havia a seleção de sementes para que o cultivo fosse mais produtivo e os cultivares de melhor qualidade, assim como há registros históricos de que híbridos surgiram no século de 16, a partir da escolha de plantas que fossem mais resistentes a mudanças drásticas de temperatura e a pragas que atacavam a plantação. Esse tipo de melhoramento foi aplicado no setor da agricultura, também havia a seleção na pecuária, na domesticação de animais pelo homem para produção de carne, leite, ovos e para o auxílio no transporte e no carregamento de aparatos pesados (BORÉM, 2005; VIEIRA, 2004).

Todo esse conhecimento deveu-se a Gregor Mendel que demonstrou a partir de testes com ervilhas a transmissão de características de uma linhagem para a outra, seguindo um padrão que hoje é conhecido como hereditariedade. Por meio dos trabalhos de Watson e Crick houve o conhecimento do funcionamento dos genes e, a partir dessa

descoberta, houve grande crescimento nas pesquisas que envolviam o material genético dos organismos. Em função disso, surgiram os trabalhos de transferência de genes e fragmentos de DNA, que nos anos 80 permitiram graças ao aprimoramento da tecnologia do DNA recombinante, tecnologia essa que deu origem aos organismos geneticamente modificados, inserir ou remover genes ou fragmentos de DNA (VIEIRA, 2004).

A tecnologia do DNA recombinante é possível por conta de todos os organismos serem constituídos pelo mesmo ácido nucleico, o DNA, independente do grau de complexidade do organismo. Através de uma biblioteca genômica nós fazemos a escolha do gene de interesse, essa biblioteca é feita a partir da escolha, isolamento e corte – com uma enzima de restrição que funciona como uma tesoura – então essa fração é ligada a um plasmídeo - que é o DNA circular de bactérias, capaz de se replicar de forma autônoma dentro da bactéria e não dependente de DNA cromossômico para isso – após feita a transformação, colocamos para crescimento/replicação (CANÇADO *et al.*, 2009; VIEIRA, 2004).

A construção desse vetor se dá a partir da escolha do melhor tipo de vetor que pode ser plasmídeo, bacteriófagos ou cosmídeos (que são plasmídeos que contém uma região específica do bacteriófago). Esse vetor, além de conter nosso gene ou fragmento de DNA, também contém um gene marcador (Figura 1) que irá selecionar nossa célula transformada em detrimento das outras, ou seja, nosso organismo transformado também terá uma substância de resistência a antibiótico, assim como um gene repórter capaz de sintetizar uma proteína que é facilmente detectada, facilitando assim a identificação da bactéria transformada (CANÇADO *et al.*, 2009).

### **3.2 Técnicas de transformação**

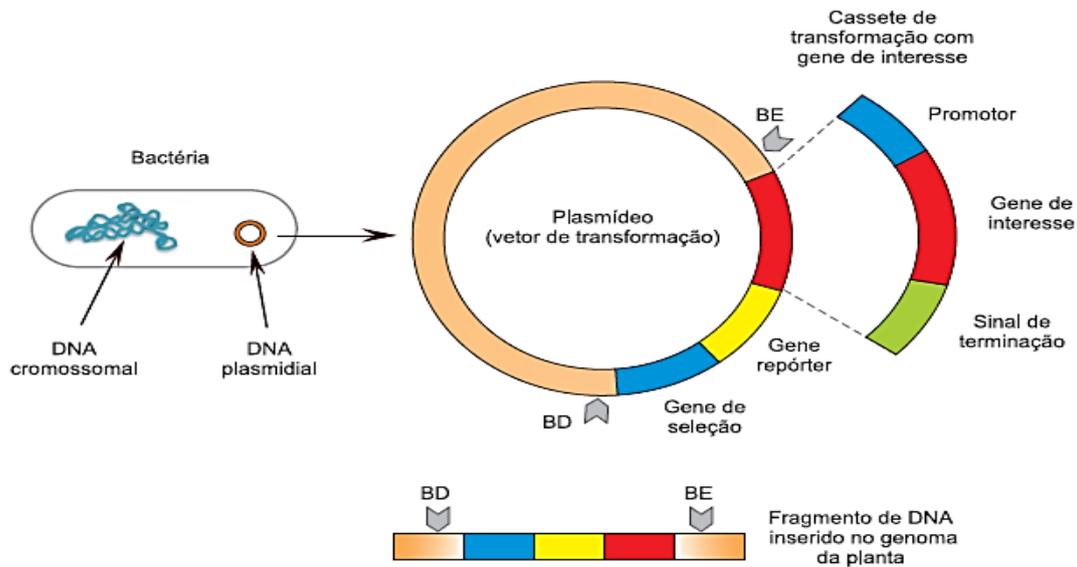
De acordo com Santarém (2000, p. 82).

“A transferência de genes para espécies vegetais tem sido possível graças à manipulação genética de células, utilizando métodos diretos ou indiretos de transformação. Para que o processo de transformação seja efetivo, o DNA deve ser introduzido em células ou tecidos vegetais aptos a regenerar plantas completas”.

As técnicas de transformação são separadas em dois grupos, nas quais a transformação é feita de forma direta e de forma indireta. A eletroporação de

protoplastos é considerada um método direto de transformação por utilizar métodos químicos e físicos para alterar a parede e membrana celulares, facilitando assim a entrada de um DNA exógeno (SANTARÉM, 2000). Protoplasto é o nome determinado para caracterizar células vegetais que não possuem parede celular, esse organismo passa por um tratamento em uma solução para torná-la competente para a entrada do gene exógeno (GANDER *et al.*, 1997).

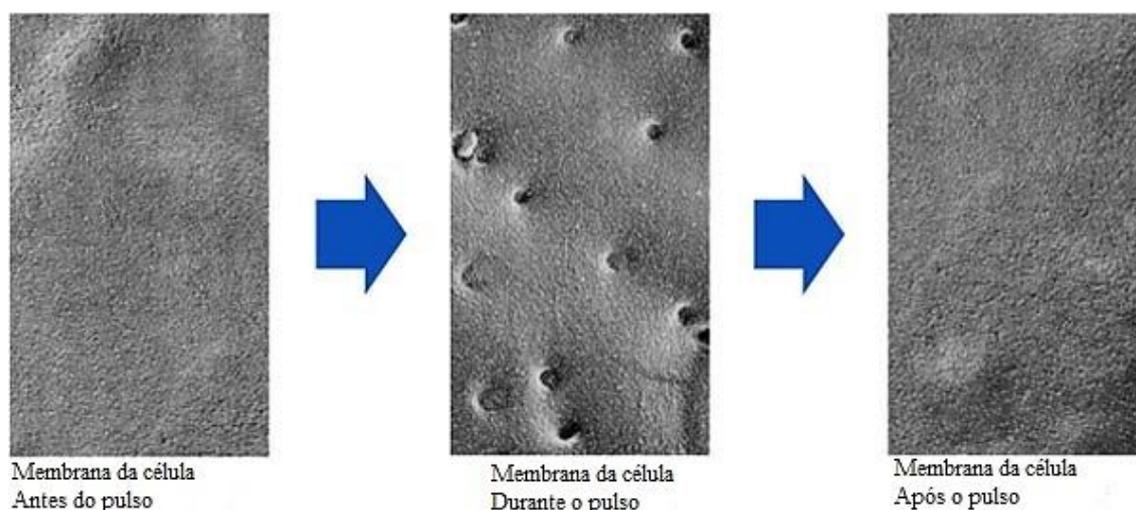
**Figura 1:** Vetor com gene de interesse, gene de seleção e gene repórter.



Fonte: Cançado *et al.* (2009)

O processo de eletroporação é expor a célula a um pulso elétrico curto e de corrente contínua a uma alta voltagem na presença de uma solução com a presença do DNA exógeno, essa corrente permite uma alteração na permeabilidade celular produzindo poros na membrana da célula (Figura 2); estes poros são determinados pela intensidade, duração e concentração do tampão iônico presente na solução, resultando em transferência de íons e do gene exógeno que irá se integrar ao genoma. Seus maiores benefícios são o de não necessitar um vetor biológico, não haver barreiras para a introdução do gene, simplicidade, praticidade na transformação e não se faz uso de reagentes tóxicos. Suas maiores desvantagens são o efeito deletério provocado pela corrente que forma os poros provocando uma possível não regeneração da planta transformada, porém mesmo quando ocorre a regeneração da planta, há a possibilidade da diminuição da fertilidade (SANTARÉM, 2000).

**Figura 2:** Aspecto da membrana da célula antes, durante e após o pulso elétrico.

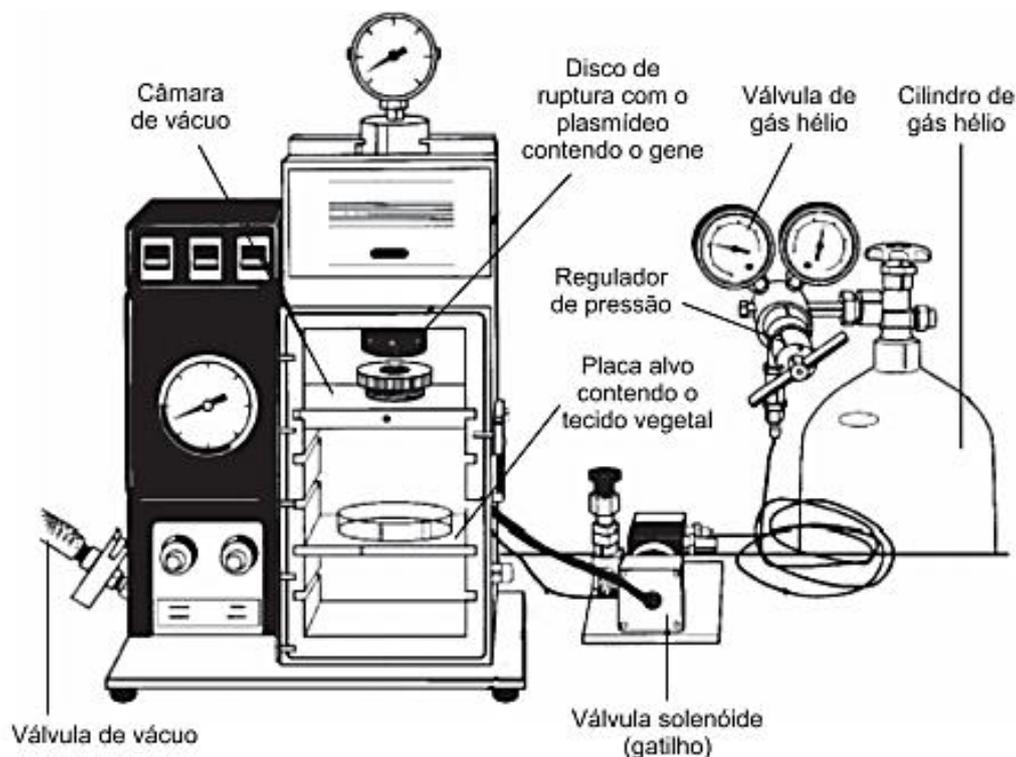


Fonte: Wallacel *et al.* (2009)

Assim como a eletroporação, a biobalística é considerada um método direto por sua forma de inserir o DNA exógeno na célula. A biobalística, também chamada de bombardeamento de partículas ou método biolístico, baseia-se em inserir na célula o gene exógeno a partir da aceleração de uma micropartícula inerte revestida com o material genético de forma que não cause a morte do organismo (SANTARÉM, 2000; SANFORD, 1988). O aparelho (Figura 3) produz uma força de impulsão pela ação de gás ou eletricidade bombardeando micropartículas revestidas de material genético diretamente na célula. Algumas células permanecem viáveis com o gene exógeno integrado ao seu genoma e outras se tornam inviáveis. O microprojétil deve ser pequeno o suficiente para adentrar na célula sem inviabilizá-la, deve-se permitir o revestimento com DNA e ser denso o suficiente para conseguir a energia necessária para perfurar a parede celular (SANTARÉM, 2000; CHRISTOU, 1993; SANFORD, 1990).

Os metais utilizados para fabricar as micropartículas devem ser inertes quimicamente para não causar danos ao DNA exógeno e a célula hospedeira. Geralmente são utilizadas partículas de ouro por este ser uniforme, denso e inerte, porém algumas vezes são utilizadas partículas de tungstênio. Os maiores benefícios dessa técnica de transformação estão relacionados à praticidade, simplicidade e versatilidade em seu uso, a possibilidade em poder aplicá-lo em vários tecidos como fungos, bactérias e vegetais, além de permitir uma melhor regeneração das plantas transgênicas (SANTARÉM, 2000; CHRISTOU, 1993; SANFORD, 1990).

**Figura 3:** Esquema de um equipamento de biobalística.



Fonte: Cançado *et al.* (2009)

Como exemplo de método indireto está a transformação mediada pela bactéria *Agrobacterium tumefaciens*. Nessa técnica há o emprego de um vetor biológico para a transformação da célula; neste caso uma bactéria Gram negativa, pertencente à família Rhizobiaceae, um microrganismo fitopatogênico causador da doença galha da coroa (*crown gall*). Essa bactéria é capaz de produzir tumores nas plantas graças a expressão de genes presentes no T-DNA que é transferido para o vegetal (Figura 5) (HANDEL *et al.*, 1997).

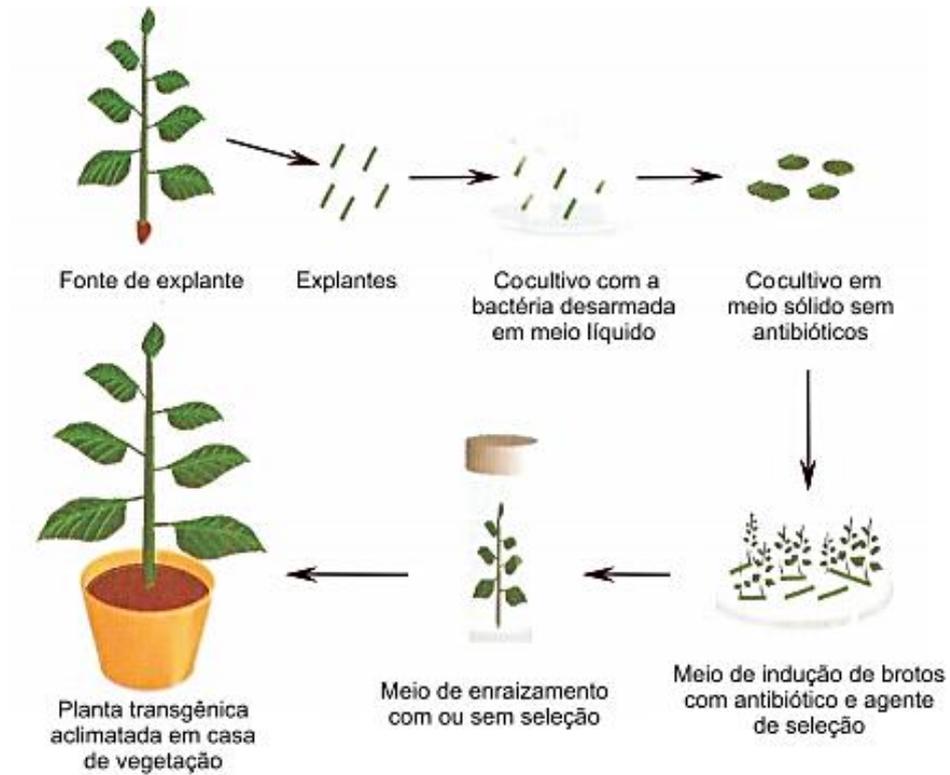
O T-DNA é o DNA de transferência presente nesta bactéria conhecida como plasmídeo Ti, este é o plasmídeo de virulência da bactéria capaz de interagir e fazer parte do genoma da planta. Este plasmídeo passa a sintetizar substâncias na planta como opinas, moléculas de aminoácidos e carboidratos utilizados como fonte de energia do microrganismo (CANÇADO *et al.*, 2009; HANDEL *et al.*, 1997). Este T-DNA é passível de “desligamento” sem que haja perda de função e erro na transferência, então é realizada a retirada da sequência do gene capaz de produzir as opinas e adicionado o gene exógeno que se pretende utilizar para a transformação, sendo assim, quando ocorrer a transferência, ao invés de se integrar ao genoma da planta o gene da bactéria

irá se integrar ao gene de interesse e assim haverá a expressão do transgene na planta (HANDEL *et al.*, 1997). Para que a infecção ocorra é necessária uma lesão no tecido do vegetal, pois, desta forma a planta libera compostos fenólicos, açúcares e aminoácidos que são reconhecidos pela bactéria e funciona como um quimioatratante. Estes compostos auxiliam também na ativação dos genes da bactéria e, também, na transferência do T-DNA.

Na transformação são utilizados explantes (Figura 4) de vegetais com alto poder de regeneração, estes podem ser pedaços de folhas novas, embriões das plantas e outros; este fragmento com alto poder de regeneração é colocado em uma solução junto às bactérias já programadas com o gene de interesse, durante esse período este segmento da planta é infectado pelo microrganismo e dá-se então início à transferência do material genético para o genoma da planta (Figura 5). Esse explante então é colocado em um meio de regeneração com a presença de antibióticos para eliminar a *Agrobacterium* e, também, com agentes que irão selecionar as plantas que foram transformadas das que não foram; então é feita a seleção das plantas transformadas e elas são crescidas *in vitro* e depois transferidas para salas de aclimação para então o cultivo. A linhagem de bactéria que é utilizada como vetor tem sua função de produção de tumores desligada, apenas fazendo a transferência do material genético de interesse (CANÇADO *et al.*, 2009; SANTARÉM, 2000).

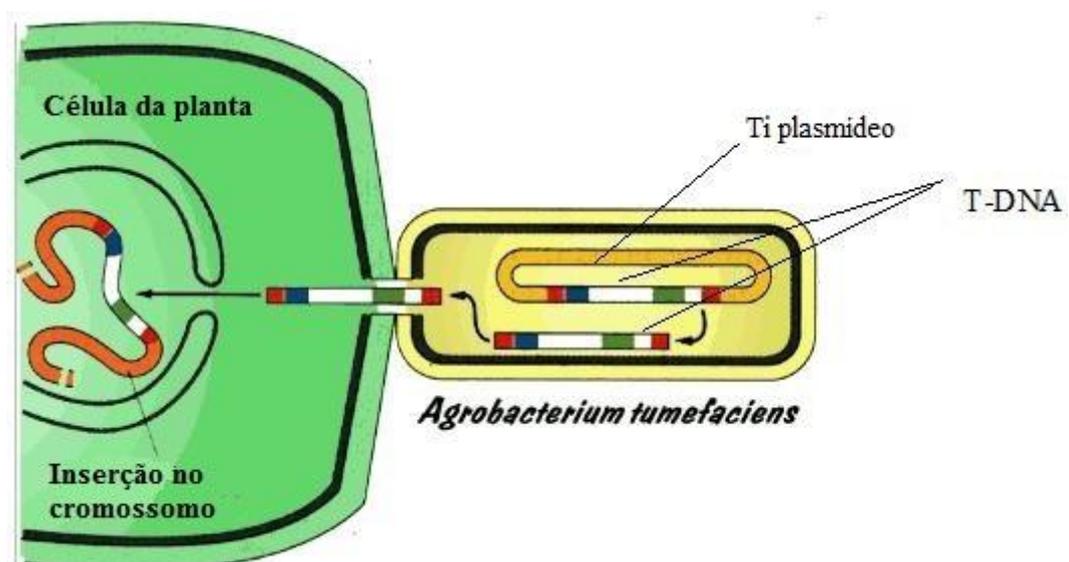
Já o método de transfecção é utilizado para fazer a transferência de vetores para células animais. A partir deste protocolo são inseridos ácidos nucleicos na célula-alvo para que a mesma expresse e produza proteínas, como também, pode ser utilizada para a inativação dessa expressão (JoVE, 2015). De acordo com Groskreutz e Schenborn (1997) este método de transferência utiliza substâncias químicas, lipídeos, métodos físicos, assim como vírus para realizar essa transferência. Essa técnica neutraliza as moléculas negativas para que consigam penetrar através das membranas, que também são negativas. Para tanto, utilizam-se substâncias como o fosfato de cálcio ou substâncias compostas por lipídeos para recobrir o ácido nucleico e formar complexos que permitam essa passagem através da bicamada lipídica.

**Figura 4:** Esquema de transformação a partir de explante de vegetais com *Agrobacterium*.



Fonte: Cançado *et al.*, 2009.

**Figura 5:** Inserção do plasmídeo da bactéria no genoma da célula vegetal.



Fonte: Nepad, 2015.

O método principal de transfecção é a transformação por meio de lipossomas, estas são estruturas compostas por lipídeos anfipáticos organizados em duas camadas e sua morfologia é circular. Essas vesículas são biodegradáveis e não imunogênicas e aparecem de forma natural em meios aquosos. Essa vesícula é muito versátil e tem grande estabilidade e pode surgir de forma natural ou sintética, sendo construída em laboratório para os mais diversos fins como, por exemplo, proteção de medicamentos contra degradação dentro do organismo e transferência de material genético dentro das células. Os lipossomos (Figura 6) são divididos de acordo com seu tamanho ou quantidade de lamelas, podendo ser MLV (vesículas multilamelares), LUV (vesículas unilamelar) e SUV (vesícula unilamelar pequenas). Após a escolha de sua composição lipídica que pode ser a base de fosfolipídeos e colesterol, escolhe uma solução aquosa para a formação das vesículas. As duas marcas comerciais mais conhecidas atualmente de lipossoma catiônico para a transfecção são Lipofectamine e Cellfectin da invitrogen. Após a inclusão do DNA ou RNA no compartimento hidrofílico do lipossoma catiônico, esse complexo será transferido para a célula. A porção lipídica da vesícula permite que ela atravesse por fusão ou endocitose a membrana da célula, dentro da célula ela transfere para o núcleo. Não foi elucidado de qual forma o ácido nucleico sai dos endossomas e lisossomas (BATISTA *et al.*, 2007; SANTOS *et al.*, 2002).

### 3.3 Biofármacos

De acordo com Vaz *et al.*, (2007, p.36),

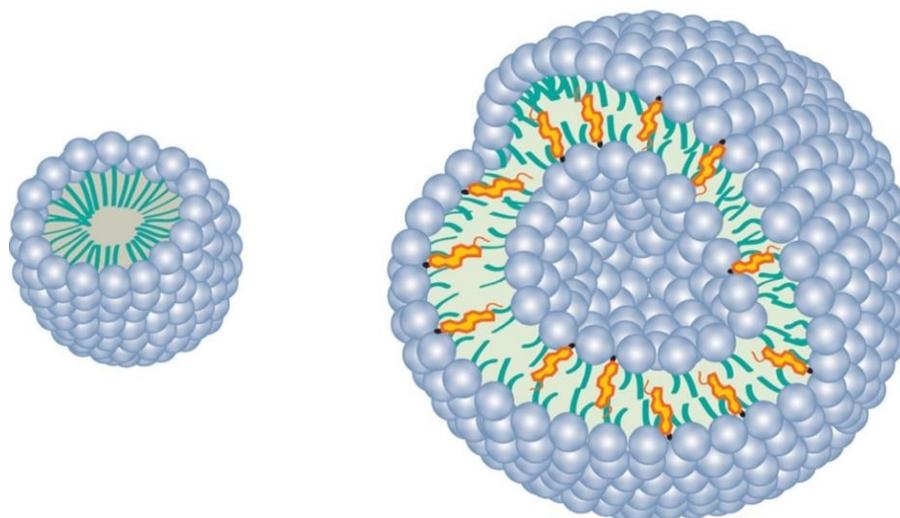
A indústria farmacêutica necessita de processos biotecnológicos para obtenção de vários produtos importantes para a saúde humana e animal.

A história da biotecnologia moderna começa inclusive com o desenvolvimento de um medicamento, a penicilina, na primeira metade do século XX. A partir de então, processos biotecnológicos são utilizados na produção de vitaminas, hormônios, antibióticos, vacinas e enzimas.

Com o aumento anual da demanda de medicamentos, a indústria farmacêutica encontrou na biotecnologia a possibilidade no crescimento da produção com a diminuição nos custos, o que trouxe vantagens do ponto de vista social e econômico. Houve um crescimento das vagas de trabalho nas indústrias de biotecnologia e a cada

ano surgem novos processos de síntese de novos medicamentos graças ao grande investimento oriundo da indústria farmacêutica (MADEIRA *et al.*, 2015).

**Figura 6:** Esquema de micela e de lipossoma.



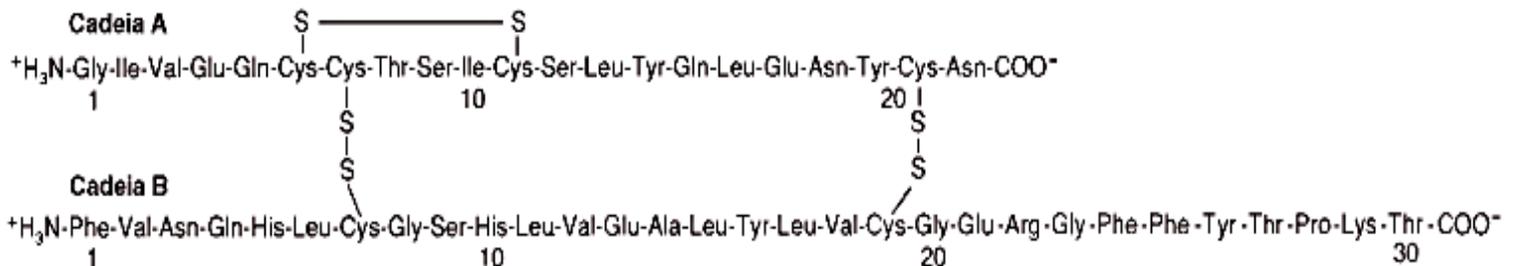
Fonte: Monteiro *et al.*, 2014.

Um exemplo de biofármaco é a insulina (Figura 9), hormônio muito importante na regulação do metabolismo de carboidratos dos animais. Essa é uma proteína composta por 51 aminoácidos organizados em duas cadeias polipeptídicas, ligadas por pontes dissulfeto (Figura 7). Esse hormônio é produzido nas células  $\beta$  pancreáticas, presentes nas ilhotas de Langerhans na porção endócrina do pâncreas. Esse é um hormônio antagônico ao glucagon, também produzido nas ilhotas de Langerhans, porém nas células  $\alpha$ . A função mais conhecida da insulina é a de facilitar a entrada da glicose nas células; entretanto, esse hormônio também é importante na metabolização de carboidratos, proteínas e lipídeos (MARZZOCO, 2011).

A insulina possui receptores em vários tecidos dos organismos, alvos habituais como cérebro, músculos e fígado, a alvos não tão clássicos quanto o ovário, por exemplo. Sua empregabilidade é muito importante para a homeostase, portanto, quando ocorre erros na sua produção ou no seu reconhecimento, ocasiona uma doença crônica conhecida como *Diabetes Mellitus*, de acordo com a OMS 5% dos óbitos com causa conhecida no mundo tem como causa esta doença e há uma estimativa de que aumente

esta porcentagem graças a ausência de medidas para controle (OMS/PAHO, 2015; MCPHEE, 2011).

**Figura 7:** Sequência de aminoácidos da insulina.



Fonte: Marzzoco, 2011.

A *Diabetes Mellitus* provoca uma hiperglicemia detectada em exames de sangue e urina, essa patologia pode ser provocada por três tipos de mal funcionamento da homeostase da glicemia: 1<sup>a</sup> as células  $\beta$  não estão produzindo uma quantidade de insulina que seja suficiente para metabolização, seja por deficiência ou destruição, 2<sup>a</sup> os receptores dos tecidos-alvo já não respondem da forma correta, há uma resistência ao hormônio e 3<sup>a</sup> um grande aumento nos hormônios que se opõe a função da insulina. A *Diabetes* é classificada em tipo 1, quando as células  $\beta$  sofrem destruição auto-imune e a tipo 2, quando não ocorre a destruição das células, porém pode ocorrer resistência ou deficiência de produção (MCPHEE, 2011). O tratamento para o controle desta doença crônica é importante para que não haja evolução para insuficiência de outros órgãos ou, até mesmo, ao óbito; para tanto os pacientes são submetidos a reeducação alimentar, além do tratamento farmacológico. O tratamento pode ser realizado com medicamentos como a metformida, geralmente ministrada em pacientes com *Diabetes* do tipo 2 ou insulina, geralmente ministrada em pacientes com *Diabetes* do tipo 1 (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2006).

Até meados dos anos 70, a insulina utilizada nesse tratamento era obtida através das glândulas de animais como porco e cavalo, porém havia grande preocupação em torno da qualidade desse hormônio e se ele não causaria possíveis problemas como reações alérgicas, além da grande demanda do hormônio, que aumentou significativamente de ano para ano. Houve necessidade na obtenção da insulina em larga escala e a procura de uma nova fonte que não fosse a animal (JOHNSON, 1983).

A partir do surgimento da tecnologia do DNA recombinante foi possível projetar que organismos produzissem proteínas ou outras substâncias de interesse em larga escala, com uma melhor qualidade quanto à pureza da substância e de valor reduzido. Conhecendo a sequência de aminoácidos, há a possibilidade de produzi-los de forma artificial em laboratório, apenas programando um organismo para sintetizar (Figura 8). Após a construção de um vetor para produção da substância, constrói-se então o gene que será expresso neste vetor para a então síntese. Subsequente ao conhecimento a respeito da sequência de aminoácidos do hormônio insulina descrito por Sures (1980) utilizou-se um códon da bactéria *Escherichia coli* para a construção do gene sintético que codificasse esse hormônio protéico, porém com algumas mudanças nas bases, mas nada que alterasse a função da proteína. Faz-se uma análise computacional para identificar repetições de sequências para evitar o surgimento de uma outra estrutura que prejudique a expressão (LIMA, 2001).

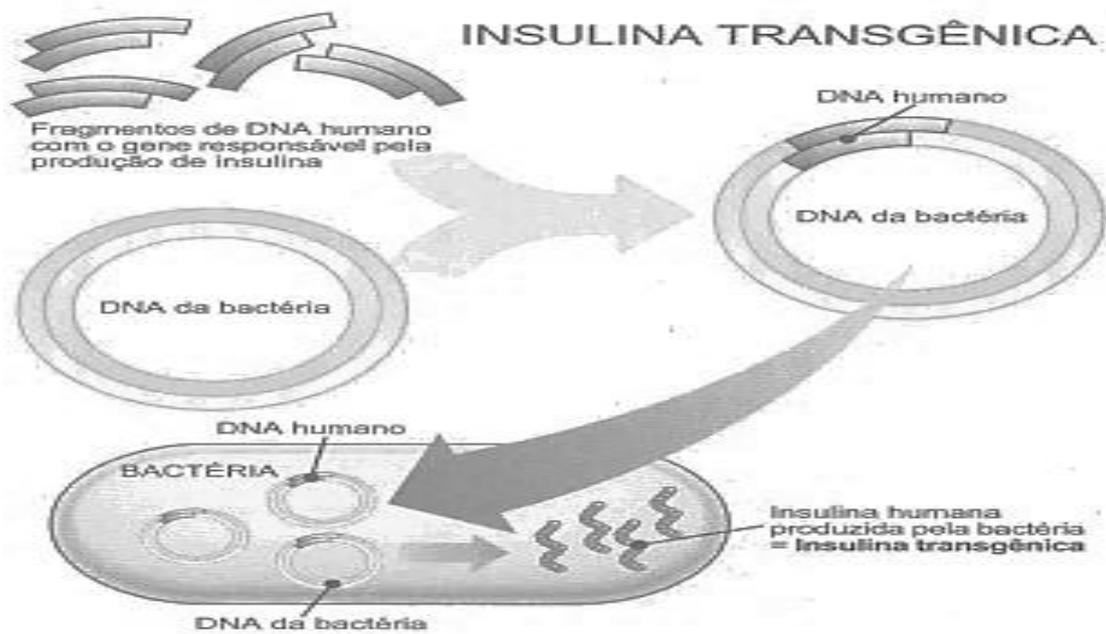
Ou seja, a *Escherichia coli* serviu como célula hospedeira para receber um gene de interesse do precursor da insulina; esse microrganismo modificado é colocado em um fermentador para reprodução da bactéria e síntese desta proteína, havendo a formação de corpos de inclusão dentro da *E. coli* até seu rompimento. Em seguida, essa proteína é purificada e convertida em insulina a partir de processos químico-enzimáticos. Ao final, é submetida ao processo de cristalização para se obter os cristais de insulina (BIOMM, 2015).

A insulina recombinante também pode ser sintetizada a partir do fungo *Saccharomyces cerevisiae*, como também, há estudos da produção de insulina em vegetais transgênicos como soja e milho. Além da insulina há produção ou estudos de outros insumos de importância farmacêutica como vacinas, fatores de coagulação, anticorpos monoclonais, heparinas, interferonas, agentes trombolíticos, fatores de crescimento, citocinas, reagentes para testes laboratoriais, hormônios e entre outros. No grupo de hormônios, um que se destaca é o hormônio do crescimento, este também sofre com as variações da insulina, pois quando há pouca insulina ou nenhuma, o GH sofre um descontrole de sua produção.

O GH é um hormônio composto por apenas uma cadeia polipeptídica, contém 191 aminoácidos em sua cadeia e é conectada internamente por duas pontes dissulfeto (Figura 10), este hormônio é sintetizado nas células somatotróficas presentes na adeno-hipófise. Sua liberação é do tipo pulsátil – ocorre em intervalos – e seu ciclo é circadiano – ciclo biológico de 24h - sendo liberado no em maior quantidade durante o

sono e regulada pelo hipotálamo (FILIKOV *et al.*, 2002). As principais ações do GH são sobre o metabolismo das proteínas, carboidratos e lipídeos, crescimento somático atuando na estrutura óssea e desenvolvimento muscular, além de inibir a produção de insulina, provocando um aumento da glicose circulante. A deficiência desse hormônio acarreta muitas patologias, entretanto o nanismo é a mais comum. Sua deficiência pode ser congênita ou adquirida, que no caso poderia ser por conta de tumor, infecção ou traumas (CUNHA *et al.*, 2011).

**Figura 8:** Esquema de produção da insulina recombinante.



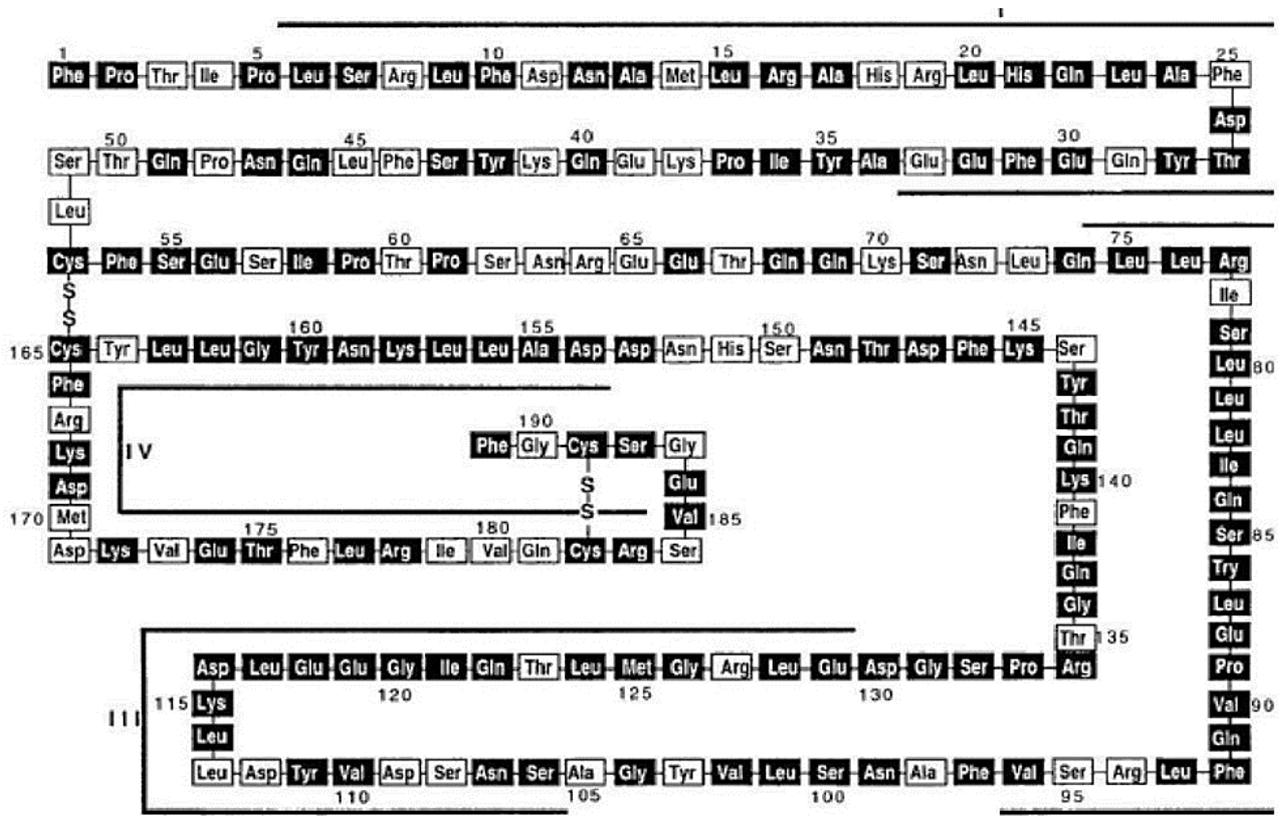
Fonte: All natural. (2015)

**Figura 9:** Insulina recombinante oferecida pelo SUS.



Fonte: Fiocruz. (2013)

**Figura 10:** Sequência de aminoácidos do GH.



Fonte: What, when, how. (2015)

O GH possui vários receptores no organismo, alguns órgãos como fígado, coração, rins, pulmão e cérebro, e principalmente nos músculos esqueléticos (CRUZAT *et al.*, 2008). O hormônio do crescimento é utilizado para muitos tratamentos além do nanismo, como por exemplo a doença Creutzfeldt-Jakob que é genética. O GH era retirado da hipófise de cadáveres, portanto era escassa e cara. Este hormônio foi um dos primeiros, juntamente com a insulina, a ser produzido em laboratório a partir da técnica de DNA recombinante (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2010).

A fabricação recombinante deste hormônio diminuiu os custos de tratamento e aumentou sua produção, porém o tratamento continua com um valor elevado por conta do processo de expressão da molécula e de qualidade para evitar a presença de toxinas. O GH já foi expresso em vários organismos como leveduras e bactérias como a *Bacillus subtilis*, porém sua produção em vegetais torna seu processo mais barato e mantém a produção em larga escala. Neste processo, adicionamos um fragmento com a sequência do GH em um vetor, porém nesse vetor também estará presente um fragmento com uma subunidade com promotor e terminador, a diferença desse processo para o da insulina é

que iremos bombardear uma semente a partir do método de biobalística com esse vetor. A semente transformada será cultivada para crescimento e produção de novas sementes que já sejam modificadas (CUNHA *et al.*, 2011).

### **3.3 Vantagens e desvantagens**

Organismos geneticamente modificados são relativamente novos no mercado, foi um grande avanço na possibilidade de adquirir grandes melhoramentos nas indústrias farmacêutica, biotecnologia e agropecuária. Entretanto, os prováveis riscos da aplicação dessa tecnologia não são totalmente previsíveis, necessitando de muito estudo e acompanhamento (COSTA *et al.*, 2011).

Dentre as vantagens conhecidas estão aumento do valor nutricional de alimentos, resistência a doenças e pragas, redução no uso de agrotóxicos, redução nos custos de produção de alimentos, menor quantidade de perda por conta do clima, produção de medicamentos e vacinas diminuindo seu custo, possível retirada de compostos alergênicos de alimentos e aumento no período de validade. E dentre as desvantagens e possíveis desvantagens conhecidas estão, o não controle de qual a posição o transgene foi inserido, riscos alimentares como alergias e transferência horizontal, risco ecológico como desenvolvimento de tolerância ao transgênico por parte de doenças e pragas e a morte de organismos não-alvo e possível cartel entre empresas que possuem as sementes transformadas (CGM, 2015; COSTA *et al.*, 2011).

## **4. REGULAMENTAÇÃO**

CTNBio, comissão técnica nacional de biossegurança, este é o órgão integrante do Ministério da Ciência e Tecnologia que está incubido para a deliberação, assessoramento e apoio técnico da regulamentação da biossegurança e organismos geneticamente modificados ao Governo Federal. Esta comissão é formada por 12 profissionais da ciência, sendo 3 de saúde humana, 3 de saúde animal, 3 de meio ambiente e 3 da área vegetal, também é composto por um delegado dos órgãos Ministério da agricultura, pecuária e abastecimento, Ministério da ciência, tecnologia e inovação, Ministério do meio ambiente, Ministério da saúde, Ministério do desenvolvimento, indústria e comércio exterior, Ministério das relações exteriores, Ministério do desenvolvimento agrário, Ministério da defesa e Sociedade brasileira de

economia política, como também por um representante especialista em defesa do consumidor, saúde, meio ambiente, biotecnologia, agricultura familiar e saúde do trabalhador. A CTNBio também está incumbida a formular normas de segurança e parecer técnico para pesquisa e uso de organismos geneticamente modificados após avaliação de risco zoofitossanitário, humano e ao meio ambiente. Todas as legislações referentes a biossegurança e OGM foram dispostas a partir da Constituição da República Federativa do Brasil do ano de 1988, do capítulo 4º referente a ciência e tecnologia e do capítulo 6º referente ao meio ambiente (CTNBio, 2015).

Há também o Conselho Nacional de Biossegurança (CNBS) que atua juntamente a CTNBio para a liberação da comercialização dos OGM e derivados (CTNBio, 2015).

A ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária), atua na fiscalização e regulamentação de quaisquer que sejam os produtos e serviços voltados para a saúde humana, portanto, irá deliberar com relação a insumos de origem farmacêutica e biotecnológicas que de alguma forma sejam consumidos por humanos. (ANVISA, 2015)

Todas as portarias, resoluções, decretos e leis brasileiras referentes a organismos geneticamente modificados, derivados e biossegurança estão disponíveis nos sites dos órgãos e são publicados no Diário Oficial da União – veículo midiático da Imprensa Nacional – (CTNBio, 2015). A seguir, quadro apresenta as principais normas referentes a OGMs no Brasil.

**Quadro 1:** Legislação de importância em relação aos OGMs.

<b>Tipo</b>	<b>Data</b>	<b>Ementa</b>
Instrução normativa	19/12/1996	Transporte de OGM's.
Instrução normativa	17/11/1998	Normas de regulamentação de importação, comercialização, transporte, armazenamento, manipulação, consumo, liberação e descarte de produtos de OGM.
Resolução normativa	27/11/2006	Classificação de riscos de OGM's e os níveis de biossegurança a serem aplicados nas atividades e projetos com OGM.
Resolução normativa	12/03/2008	Normas de liberação comercial de OGM e derivados.
Resolução normativa	06/11/2008	Norma de liberação planejada no meio ambiente de OGM de origem vegetal e derivados

Fonte: Adaptada de CGM. (2015)

## **5. CONSIDERAÇÕES FINAIS**

Organismo geneticamente modificado faz parte de um nicho de temas controversos e polêmicos, entretanto, não há forma de se negar a importância na produção de um cultivo que seja mais produtivo, mais resistente, com maior valor nutritivo, como também seu emprego na indústria farmacêutica para a produção de medicamentos, aumentando sua produção e diminuindo seu custo.

Apesar da engenharia genética ser relativamente nova, o homem vem em busca da melhora de seus produtos e serviços desde quando teve capacidade para “produzir” seu próprio alimento, domesticando animais, cultivando sementes de vegetais que tinham melhor sabor e produziam mais. Após a descoberta do DNA e dos genes, naturalmente iria haver a tentativa de produzir organismos com características que antes não eram possíveis de se adquirir. O que, felizmente, propiciou que houvesse uma maior produção de alimentos e medicamentos, já que houve uma maior demanda com o crescimento da população mundial.

E para que possamos, de forma segura, consumir os produtos oriundos da biotecnologia há a necessidade do estudo inter e multidisciplinar para compreender e diferenciar os impactos causados no meio ambiente, no reino animal e para o humano. Hoje em dia essa técnica tem que estar de acordo com o Guia Internacional para Segurança em Biotecnologia (IGSB) e no Brasil com a Comissão Técnica Nacional de

Biossegurança (CTNBio), para que dentro da conformidade, sejam diminuídas as possíveis desvantagens provocadas pela engenharia genética.

## 6. REFERENCIAL BIBLIOGRÁFICO

ALL NATURAL. **Proteínas y peptídeos terapéuticos recombinantes**. Madrid, 2015. Disponível em: <http://allnatural.iespalomeras.net/ampliacion/proteinas.htm>. Acesso em: 1 nov. 2015.

ANDRADE, S. R. M. **Transformação de plantas**. Planaltina: Embrapa Cerrados – Documentos 102, v. 1, n.1, p. 28, dez. 2003.

ANVISA. **A Agência Nacional de Vigilância Sanitária**. Brasília, 2015. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/wps/portal/anvisa/anvisa/agencia>. Acesso em: 1 nov. 2015.

BATISTA, C. M.; CARVALHO, C. M. B.; MAGALHÃES, N. S. S. Lipossomas e suas aplicações terapêuticas: Estado da arte. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, São Paulo, v.43, n.2, p. 167–179, abr./jun. 2007.

BIOMM Technology. **Tecnologia de produção de insulina recombinante**. Belo Horizonte, 2015. Disponível em: <http://www.biommm.com/pt/index.php?p=3,2>. Acesso em: 1 nov. 2015.

BIONOVIS. **Biotecnologia que salva vidas**. São Paulo, 2015. Disponível em: <http://bionovis.com.br/ped/sobre-biofarmacos/>. Acesso em: 1 nov. 2015.

BORÉM, A. A história da biotecnologia. **Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**, Brasília, v.8, n.34, p. 10-12, jan/jun. 2005.

BORGES-OSÓRIO, W.R.; ROBINSON, W. M. **Genética Humana**. 3ª edição. Porto Alegre: Artmed, 2013.

BRUNO, A. N. **Biotecnologia I: princípios e métodos**. 1ª edição. Porto Alegre: Artmed, 2014.

CANÇADO, G. M. A. *et al.* Plantas transgênicas. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 30, n.253, p. 14-23, nov/dez. 2009.

CGM – Centro de Genética Molecular. **O que são transgênicos?** Minas Gerais, 2015. Disponível em: <http://www.cgm.icb.ufmg.br/oquesao.php>. Acesso em: 1 nov. 2015.

CHRISTOU, P. Particle Gun Mediated Transformation. **Current Opinion in Biotechnology**, Londres, v. 4, n. 2, p. 135-141, abr. 1993.

COSTA, T. E. M. M. *et al.* Avaliação de risco dos organismos geneticamente modificados. **Ciência & Saúde Coletiva**, Rio de Janeiro, v. 16, n. 1, p. 327-336, jan. 2011.

CRUZAT, V. F. *et al.* Hormônio do crescimento e exercício físico: considerações atuais. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, São Paulo v. 44, n. 4, p. 549-562 out/dez, 2008.

CUNHA, N. B. *et al.* Expression of functional recombinant human growth hormone in transgenic soybean seeds. **Transgenic Research**, Nova Iorque, v. 20, n.4 p.811–826, 2011.

CTNBio. **Composição da CTNBio e legislações**. Brasília, 2015. Disponível em: <http://www.ctnbio.gov.br/>. Acesso em: 1 nov. 2015.

FILIKOV, A.V. *et al.* Computational stabilization of human growth hormone. **Protein Science**, California, v. 11, n. 6, p. 1452–1461, jun. 2002.

FIOCRUZ. **Brasil vai começar a produzir cristais de insulina ainda em 2013**. Rio de Janeiro, 2013. Disponível em: [http://www.agencia.fiocruz.br/sites/www.agencia.fiocruz.br/files/publique/far\\_insulina4.jpg](http://www.agencia.fiocruz.br/sites/www.agencia.fiocruz.br/files/publique/far_insulina4.jpg). Acesso em: 1 nov. 2015.

GANDER, E. S.; MARCELLINO, L. H. Plantas transgênicas. **Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**, Brasília, v. 1, n.1, p. 34 a 37, maio 1997.

GRIFFITHS, A. J. F. *et al.* **Introdução a genética**. 9ª edição. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2011.

HANDEL, C. L. *et al.* Transformação genética de cereais via *Agrobacterium tumefaciens*. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 27, n.2, p. 359-365, abr./jun. 1997.

JOHNSON, I. S. Human Insulin from Recombinant DNA Technology. **Science**, Washington, v. 219, n.4585, p. 632-637, fev. 1983.

JoVE. **An Introduction to Transfection**. Cambridge, 2015. Disponível em: <http://www.jove.com/science-education/5068/an-introduction-to-transfection>. Acesso em: 1 nov. 2015.

LIMA, B. D. A produção de insulina humana por Engenharia Genética. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, Brasília, v. 4, n.23, p. 28-31, dez. 2001.

MADEIRA, L. S.; BORSCHIVER, S.; PEREIRA JR. N. **Identificação de Biofármacos para Produção no Brasil**. Rio de Janeiro, 2015. Disponível em: [http://www.iiis.org/CDs2011/CD2011CSC/CIIT\\_2011/PapersPdf/NA822WU.pdf](http://www.iiis.org/CDs2011/CD2011CSC/CIIT_2011/PapersPdf/NA822WU.pdf). Acesso em: 1 nov. 2015.

MARTINS, R. A. A origem dos pombos domésticos na estratégia argumentativa de Charles Darwin. **Filosofia e História da Biologia**, São Paulo, v. 7, n. 1, p. 91-116, jan./jun. 2012.

MARZZOCO, A. **Bioquímica básica**. 3ª edição. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2011.

MCPHEE, S. J.; GANONG, W. F. **Fisiopatologia da doença. Uma introdução à medicina clínica.** 5ª edição. Porto Alegre: AMGH, 2011.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA. **Organismos geneticamente modificados.** Brasília, 2015. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/portal/page/portal/Internet-MAPA/pagina-inicial/vegetal/organismos-geneticamente-modificados>. Acesso em: 1 nov. 2015.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Diabetes Mellitus** / Ministério da Saúde, Secretaria de Atenção à Saúde, Departamento de Atenção Básica. – Brasília: Ministério da Saúde, 2006.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Protocolo Clínico e Diretrizes terapêuticas. **Deficiência de Hormônio do Crescimento - Hipopituitarismo** / Ministério da Saúde, Secretaria de atenção à Saúde, Departamento de Atenção Básica. – Brasília: Ministério da Saúde, 2010.

MONQUERO, P. A. Plantas transgênicas resistentes aos herbicidas: situação e perspectiva. **Bragantia**, São Paulo, v.64, n.4, p.517-531, ago. 2005.

MONTEIRO, N.; MARTINS, A.; REIS, R. L. e NEVES, N. M. Liposomes in tissue engineering and regenerative medicine. **Interface**, Portugal, v. 11, n.101, p. 1-24, out. 2014.

NEPAD. **Plant transformation using Agrobacterium tumefaciens.** Burkina Faso, 2015. Disponível em: <http://www.nepadbiosafety.net/subjects/biotechnology/plant-transformation-agro>. Acesso em: 1 nov. 2015.

OMS. **Diabetes Mellitus.** Disponível em: [http://www.paho.org/bra/index.php?option=com\\_content&view=article&id=394:diabetes-mellitus&Itemid=539](http://www.paho.org/bra/index.php?option=com_content&view=article&id=394:diabetes-mellitus&Itemid=539). Acesso em: 1 nov. 2015.

PHILLIPS, T. Genetically Modified Organisms (GMOs): Transgenic Crops and Recombinant DNA Technology. **Scitable by Nature education**, Cambridge, v.1 n.1, p.213, jan. 2008.

PROMEGA. **Transfection.** Brasil, 2015. Disponível em: <https://www.promega.com.br/resources/product-guides-and-selectors/protocols-and-applications-guide/transfection/> Acesso em: 1 nov. 2015.

RIBEIRO, I. G.; MARIN, V. A. A falta de informação sobre os Organismos Geneticamente Modificados no Brasil. **Ciência & Saúde Coletiva**, Rio de Janeiro, v.17, n.2, p.359-368, fev. 2012.

RIDLEY, M. **Evolução.** 3ª edição. Porto Alegre: Artmed, 2007.

ROTHER, E. T. Revisão sistemática X Revisão narrativa. **Acta Paulista de Enfermagem**, São Paulo, v. 20, n.2, p. 1-2 abr./jun. 2007.

SANFORD, J.C. Biolistic Plant Transformation. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v.79, n.1, p. 206-209, mai. 1990.

SANFORD, J.C. The Biolistic Process. Cambridge: **Trends in Biotechnology**, v.6, n.12 p. 299-302, dez. 1988.

SANTARÉM, E. R. Métodos eficientes para a transformação genética de plantas. **Revista Ciência e Tecnologia**, Piracicaba, v.8, n.15, p. 81-90, jun. 2000.

SANTOS, N. C ; CASTANHO, M. A. R. B. Lipossomas: a bala mágica acertou? **Química Nova**, São Paulo, v. 25, n. 6B, p. 1181-1185, abr. 2002.

VAZ, R. S.; PRADO, M. R. M. e CARVALHO, F. Biotecnologia na indústria farmacêutica. **Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**, Brasília, v. 10, n.37, p. 36 a 39, 2007/2008.

VIEIRA, L. G. E. Organismos geneticamente modificados. Uma tecnologia controversa. **Ciência Hoje**, Rio de Janeiro, v.34, n.203, p. 29-34, abr. 2004.

WALLACEL, M. *et al.* Tolerability of Two Sequential Electroporation Treatments Using MedPulser DNA Delivery System (DDS) in Healthy Adults. **Molecular Therapy**, San Diego, v. 17, n.5, p. 922–928, mai. 2009.

WHAT, WHEN, HOW. **Growth Hormone Part 1**. Disponível em: <http://what-when-how.com/molecular-biology/growth-hormone-part-1-molecular-biology/>. Acesso em: 20 nov. 2015.