

HÁ 50 ANOS ERA FEITA A PRIMEIRA CLONAGEM COM TRANSFERÊNCIA DE NÚCLEO

Primeiro passo rumo à Dolly

A primeira clonagem com transferência de núcleo animal não é, como se poderia imaginar, um feito dos tempos atuais: aconteceu há exatamente 50 anos.

Em março de 1952, a Academia Nacional de Ciências dos Estados Unidos recebia para publicação em seus anais o manuscrito ‘Transplante de núcleos vivos de células de blástula para óvulos de sapos enucleados’, em que Robert W. Briggs e Thomas J. King Jr. (ver ‘Dupla dinâmica’) apresentavam os resultados dos primeiros experimentos de clonagem de animais por meio da técnica de transferência de núcleo – a mesma utilizada pelo embriologista escocês Ian Wilmut para obter, em 1997, a famosa ovelha Dolly.

No início da década de 1950, uma das muitas preocupações dos biólogos era saber se, durante o processo de diferenciação (especialização) das células – que ocorre principalmente no desenvolvimento embrionário – havia mudanças irreversíveis no núcleo. A idéia, então, era observar como se desenvolveria um organismo a partir de uma célula-ovo (célula inicial, que resulta normalmente da fecundação do óvulo pelo espermatozóide, também chamada zigoto) que tivesse o núcleo de uma célula já diferenciada. Para tanto, era preciso criar uma metodologia de transferência de núcleos.

No método de transferência nuclear que desenvolveram, Briggs e King utilizaram núcleos de células do estágio inicial do embrião (blastômeros). Essas células foram escolhidas por serem pequenas – portanto semelhantes a células de indivíduos adultos (o óvulo que dá origem ao zigoto é, ao contrário, uma célula grande) –, mas ainda completamente indiferenciadas, ou seja, capazes de gerar indivíduos completos.

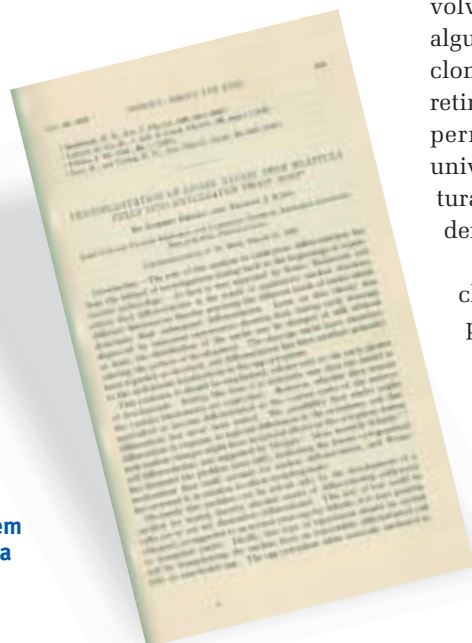
De fato, embora os primeiros clones animais tenham sido feitos, no final do século 19 e início do século 20, a partir da separação de células de embriões de duas células por agitação ou com o auxílio de fios de cabelo, outros foram obtidos a partir da separação de blastômeros após um número maior de divisões celulares.

É importante lembrar que o conceito de clone está associado à reprodução assexuada – sem envolvimento de células sexuais. Todo mundo que alguma vez fez um plantio usando um ramo vegetal clonou – sem saber – uma planta. Em animais, a retirada de uma parte do organismo em geral não permite a reconstrução do corpo; mas gêmeos univitelinos (idênticos) são exemplos de clones naturais, já que têm origem na separação de células derivadas das primeiras divisões do zigoto.

A criação da técnica de transferência de núcleos se valeu de toda a tecnologia desenvolvida pelos embriologistas da primeira metade do século 20 para realizar ‘cirurgias’ de óvulos e embriões. Essa tecnologia era conhecida também no Brasil, tendo sido difundida pelo professor Giorgio Schreiber (1905-1976), que publicou em 1946 um trabalho intitulado ‘A cirurgia do ovo e do embrião’, em que resume uma série de conferências sobre o tema apresentadas no Instituto Biológico de São Paulo.

Há 50 anos

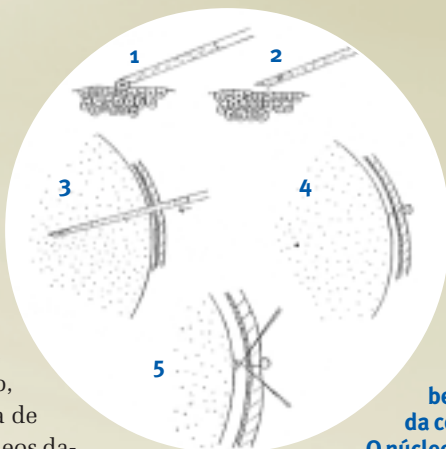
Página inicial do artigo em que Briggs & King anunciaram a primeira clonagem com transferência de núcleo



Alterações genéticas

O sucesso na geração de embriões já diferenciados após a transferência de núcleos embrionários para óvulos estabeleceu a metodologia necessária para que núcleos de células diferenciadas fossem testados. A eficiência do processo, entretanto, era baixa: apenas cerca de 12% dos óvulos injetados com núcleos davam origem a embriões normais. Como a preocupação maior dos pesquisadores era averiguar a existência de alterações genéticas durante a diferenciação, o sucesso das transferências era medido pela formação de embriões em estágios mais avançados de desenvolvimento. Não havia até esse momento preocupação em obter animais adultos.

Após o trabalho inicial de 1952, Briggs e King deram prosseguimento às investigações sobre transferência de núcleos, passando a usar como doadoras células embrionárias em estágios mais avançados de desenvolvimento. Como o sucesso dos transplantes nesses experimentos era ainda menor do que o



O diagrama ilustra o método usado por Briggs & King para transplantar núcleos de células de blástula em óvulos enucleados. A célula doadora de núcleo é sugada com uma micropipeta de vidro de diâmetro ligeiramente menor que o da célula (1). Para uma transferência bem-sucedida, é preciso romper a superfície da célula sem dispersar seu conteúdo (2).

O núcleo é então introduzido

no óvulo enucleado (3) e, quando a micropipeta é retirada, forma-se um canal (4) que é fechado por agulhas de vidro (5) para evitar perda significativa de citoplasma

obtido anteriormente, eles passaram a modificar as condições experimentais de modo a provocar menos lesões nos núcleos transferidos. Embora a adoção dos novos protocolos tenham dobrado a porcentagem de óvulos injetados com núcleos que deram origem a embriões, quando se usavam núcleos de células um pouco mais diferenciadas os embriões resultantes tinham seu desenvolvimento interrompido em estágios anteriores à formação do girino.

Dupla dinâmica

Thomas King nasceu em Nova York em 1921. Bacharelou-se em medicina pela Fordham University e obteve os graus de mestre e doutor na Universidade de Nova York. No início da carreira, deu aulas no curso de formação de técnicos em medicina na Escola Militar e, durante a Segunda Guerra, foi oficial do Serviço Médico Norte-americano no Pacífico. Sua tese de doutorado foi desenvolvida no laboratório de Robert Briggs no Instituto de Pesquisas sobre o Câncer, na Filadélfia. Em 1967, King se transferiu para a Universidade de Georgetown, em Washington. Dirigiu o Instituto Nacional do Câncer de 1974 a 1980 e, em seguida, retornou à Universidade de Georgetown, onde trabalhou até aposentar-se em 1990. Foi também diretor do Instituto Kennedy de Ética e membro da diretoria do Centro Lombardi de Pesquisa sobre o Câncer, em Georgetown.

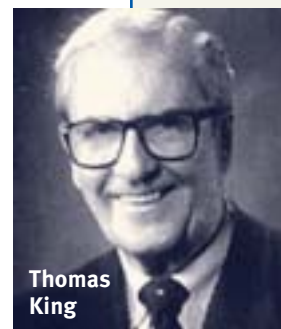
Robert Briggs nasceu em Watertown, Massachusetts, em 1911. De

família de origem simples, perdeu a mãe muito pequeno e foi criado pelos avós em Epping, New Hampshire. Muito cedo manifestou gosto por duas coisas que o acompanhariam por toda a vida: ciência, que descobriu por influência de um professor do ensino médio, e música, que começou a aprender na infância, com uma tia. Aos 14 anos passou a trabalhar em uma fábrica de sapatos durante o verão; no inverno, tocava banjo em bailes de cidadezinhas de New Hampshire. Mais tarde foi para Boston, onde se graduou em ciências, em 1934, e deu início ao seu doutorado na Universidade de Harvard. Nesse período fez uma detalhada análise das mudanças metabólicas no desenvolvimento do sapo. Em 1938, obteve seu PhD e se tornou professor da Universidade de McGill, no Canadá. De volta aos Estados Unidos em 1942, foi para o Instituto de Pesquisas sobre o Câncer, na Filadélfia, dando início às pesquisas sobre o papel do núcleo no desenvolvimento. Em 1956, tornou-se professor de zoologia na

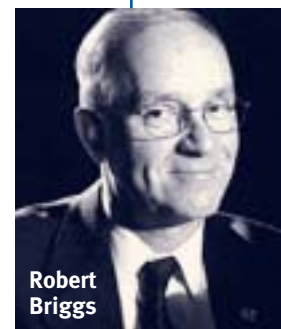
Universidade de Indiana, onde se aposentou em 1982 e recebeu o título de professor emérito.

Foi no Instituto de Pesquisas sobre o Câncer que ele e Thomas King desenvolveriam as pesquisas que redundaram na primeira experiência bem-sucedida de clonagem de sapos com transferência de núcleo. Por esse feito espetacular, Briggs e King foram os primeiros norte-americanos agraciados com o prêmio Charles-Leopold Mayer, da Academia de Ciências do Institut de France, a maior honraria concedida pela Academia Francesa. Ambos morreram de câncer: Briggs em 1983, em Indianápolis, e King em 2000, em Baltimore.

Roberto Barros de Carvalho
Ciência Hoje/MG

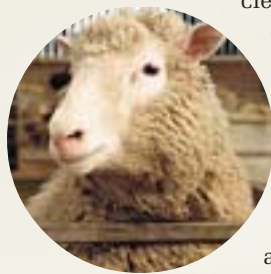


Thomas King



Robert Briggs

MEMÓRIA



**Dolly,
a ovelha
clonada
na Escócia
em 1997**

Esses resultados, que mais tarde foram obtidos também por outros pesquisadores, sugeriam que o núcleo de células mais diferenciadas haviam sofrido modificações genéticas durante o processo de diferenciação.

Entretanto, na década de 1960, foi descrita a clonagem bem-sucedida de sapos após a microinjeção de núcleos de células do epitélio intestinal – totalmente diferenciadas, portanto –, reforçando a idéia de que ao menos a maioria das células diferenciadas possuíam núcleos sem alterações genéticas irreversíveis. A justificativa para a baixa incidência de sucesso nas transferências nucleares foi apresentada pela cientista Marie A. Di Berardino, que trabalhou com Briggs e King nos experimentos iniciais. Em seus trabalhos, Di Berardino descreveu inúmeras alterações cromossômicas nos núcleos transferidos que não eram encontradas nos núcleos das células doadoras. A conclusão é que elas decorriam dos procedimentos de transferência.

A técnica de microinjeção em óvulos de anfíbios descrita por Briggs e King foi adotada durante muitas décadas para introduzir material genético nesse sistema celular, sobretudo DNA purificado, tanto

para estudos de expressão gênica quanto de estrutura de cromatina (estado em que os cromossomos são invisíveis ao microscópio óptico).

Um aspecto curioso dessa história é que Robert Briggs e Thomas King trabalhavam no Instituto de Pesquisa do Câncer da Filadélfia e tinham seu trabalho financiado pelo Instituto Nacional (norte-americano) do Câncer e pela Sociedade Norte-americana de Câncer. O objetivo central do trabalho era entender o processo de diferenciação celular, sem perspectiva, portanto, de produzir terapia efetiva a curto prazo. Mas seus resultados foram cruciais para que, quase cinco décadas depois, a clonagem de mamíferos se tornasse possível – técnica importante não só para a preservação de espécies animais com características genéticas de reprodução difícil ou dispendiosa (o aspecto mais difundido e discutido da questão), como também para estudos de determinação biológica de longevidade. Será que, com o imediatismo da sociedade atual, haverá histórias como esta para serem contadas daqui a 50 anos?

Mônica Bucciarelli Rodriguez

*Instituto de Ciências Biológicas,
Universidade Federal de Minas Gerais*

Dê um brilho especial a suas aulas.

Use os livros desta coleção.

Ciência Hoje na Escola é uma série de 12 livros paradidáticos que abordam temas da atualidade e abrangem diversas áreas do conhecimento. Cada volume é composto por artigos escritos por alguns dos melhores pesquisadores do país. Todos os livros contêm índice por palavra-chave e um caderno especial para auxiliar o trabalho do professor em sala de aula. Bem ilustrados, os volumes trazem ainda experimentos que apóiam as atividades curriculares.



**A MELHOR DA SALA
Ela não pode faltar**



CONHEÇA OS TÍTULOS DA COLEÇÃO

Céu e Terra
Bichos
Corpo Humano e Saúde
Melo Ambiente e Águas
Ver e Ouvir
Química do dia-a-dia
Tempo e espaço
Matemática
Evolução
Geologia
Sexualidade
Eletricidade

NA INTERNET: www.ciencia.org.br PELO TELEFONE: 0800-264846