

REVISÃO E SÍNTESE

A legislação brasileira de biossegurança em face das Tecnologias Inovadoras de Melhoramento de Precisão (TIMPs)

Giancarlo Pasquali¹

Resumo: No Brasil, as novas técnicas de modificação genética incluindo a edição gênica foram conjuntamente denominadas “Técnicas Inovadoras de Melhoramento de Precisão” (TIMPs), equivalente às Novas Tecnologias de Melhoramento (NBT). A Resolução Normativa No 16 da Comissão Técnica Nacional de Biossegurança (CTNBio) estabeleceu que instituições que estiverem desenvolvendo produtos por meio de TIMPs poderão submeter cartas-consulta para que a Comissão avalie se o produto deve seguir a regulamentação estabelecida para Organismos Geneticamente Modificados (OGMs, Lei Federal Brasileira No 11.105) ou se poderá ser registrado como produto de melhoramento convencional ou mutagênese. Portanto, a perspectiva de se obter organismos melhorados geneticamente pelas TIMPs soma-se à realidade de que tais produtos não sejam considerados OGMs ou transgênicos. A vantagem competitiva dos desenvolvedores tornou-se óbvia: enorme redução de custos financeiros e temporais para a liberação de organismos editados nos mercados brasileiro e mundial, com garantia de segurança equivalente aos produtos gerados por melhoramento convencional incluindo a mutagênese. Uma revisão dos temas relativos à legislação brasileira de biossegurança e as atividades com TIMPs será aqui apresentada. O objetivo é esclarecer aos interessados sobre os requisitos técnicos necessários para a apresentação de consulta à CTNBio para a regularização das instituições em face da biossegurança e das futuras atividades com TIMPs.

Palavras-chave: Comissão de Biossegurança, conformidade, CRISPR-Cas, organismos geneticamente modificados, transgênicos.

1 - Centro de Biotecnologia da UFRGS, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil. (giancarlo.pasquali@ufrgs.br)

* Este artigo foi redigido meramente para fins de informação e debate, não devendo ser considerado uma opinião legal para qualquer operação ou negócio específico.

Abstract: *In Brazil, new genetic modification techniques, including gene editing, have been collectively named “Innovative Precision Breeding Techniques” (TIMPs), equivalent to New Breeding Technologies (NBT). Normative Resolution Nr. 16 of the National Technical Commission on Biosafety (CTNBio) established that institutions that are developing products through TIMPs may submit consultation letters for the Commission to evaluate whether the product should follow the regulations established for Genetically Modified Organisms (GMOs, Brazilian Federal Law Nr. 11.105) or if it can be registered as a product of conventional breeding or mutagenesis. Therefore, the prospect of obtaining genetically enhanced organisms by TIMPs adds to the reality that such products are not considered GMOs or transgenic. The competitive advantage of the developers has become obvious: enormous reduction of financial and time costs for the release of edited organisms in the Brazilian and world markets, with a guarantee of equivalency to products generated by conventional breeding including mutagenesis. A review of the topics related to the Brazilian biosafety legislation and activities with TIMPs will be presented here. The objective is to clarify the interested parties about the technical requirements necessary for the presentation of a consultation to CTNBio for the regularization of institutions in the face of biosafety and future activities with TIMPs.*

Keywords: *Biosafety Commission, compliance, CRISPR-Cas, genetically modified organisms, transgenic.*

Breve Histórico da Regulamentação da Engenharia Genética e dos Organismos Geneticamente Modificados no Brasil.

A Lei Federal No 8.974 de 5 de janeiro de 1995¹ foi o primeiro instrumento jurídico decretado pelo Congresso Nacional e sancionado pela Presidência da República a estabelecer normas para o uso das técnicas de engenharia genética e para a liberação de organismos geneticamente modificados (OGMs, recombinantes ou transgênicos) no meio ambiente no Brasil. Em 20 de dezembro do mesmo ano, o Decreto Federal No 1.752² foi promulgado para regulamentar a Lei 8.974, dispondo sobre a vinculação, a competência e a composição da Comissão Técnica Nacional de Biossegurança (CTNBio), além de orientar outras providências relativas à biossegurança de OGMs no Brasil. A CTNBio passou a ser, então, o colegiado responsável pelas análises científicas e técnicas e pelas decisões em aprovar, ou não, os estudos, os experimentos e as avaliações em regime de contenção (confinado a laboratórios e edificações) e a campo de OGMs, bem como a importação e a exportação, a liberação comercial e o consumo de OGMs no Brasil, entre outras competências, todas exclusivamente relacionadas aos organismos derivados da engenharia genética, como será discutido no próximo tópico.

Foram três as principais razões que levaram pesquisadores e legisladores brasileiros a discutir, redigir e, finalmente, proclamar a lei e o decreto de biossegurança. Em primeiro lugar, o conjunto de movimentos internacionais que solicitavam, promoviam e até exigiam a criação de regras nos âmbitos nacionais para garantir a segurança das atividades com organismos recombinantes ou transgênicos. Entre estes movimentos, destacaram-se as Conferências de



Asilomar ocorridas na Califórnia (EUA) nos anos de 1973 e 1975. Com a primeira Conferência, foi proposta uma moratória às atividades envolvendo a tecnologia do DNA recombinante ou engenharia genética. Já na edição de 1975, as primeiras diretrizes de segurança foram apresentadas e orientaram a realização futura das atividades com DNA recombinante. Um impacto mais direto destes e outros movimentos internacionais sobre a pesquisa brasileira foi promovido pelo Banco Internacional para a Reconstrução e o Desenvolvimento (BIRD) da Organização das Nações Unidas (ONU). Como condição para fomentar financeiramente a segunda fase do Programa de Apoio Institucional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (PADCT II) do Ministério da Ciência e Tecnologia na década de 1990, o BIRD exigiu a formulação de normas de biossegurança para as atividades de biotecnologia. Em segundo lugar, o Brasil deveria atender os incisos II, IV e V do parágrafo primeiro do artigo 225 da Constituição Federal promulgada em 1988³. Segundo este artigo da Constituição, “todos têm direito ao meio ambiente ecologicamente equilibrado, bem de uso comum do povo e essencial à sadia qualidade de vida, impondo-se ao Poder Público e à coletividade o dever de defendê-lo e preservá-lo para as presentes e futuras gerações”. No parágrafo primeiro do artigo 225, as incumbências do Poder Público para assegurar a efetividade desse direito estão definidas. Segundo o inciso II, o Poder Público deverá “preservar a diversidade e a integridade do patrimônio genético do País e fiscalizar as entidades dedicadas à pesquisa e à manipulação de material genético”. Finalmente, o Brasil estava também comprometido em atender e respeitar a Convenção sobre Diversidade Biológica (CDB) assinada pelo Brasil em 1992 durante a Conferência das Nações Unidas sobre Meio Ambiente e Desenvolvimento. Segundo a CDB, todos os países signatários deverão, “na medida do possível e conforme o caso, estabelecer ou manter meios para regulamentar, administrar ou controlar os riscos associados à utilização e à liberação de organismos vivos modificados resultantes da biotecnologia, que provavelmente provoquem impacto ambiental negativo que possa afetar a conservação e a utilização sustentável da diversidade biológica, levando também em conta os riscos para a saúde humana”. O histórico mais completo e detalhado das razões que levaram à criação de legislação de biossegurança no Brasil pode ser melhor estudado a partir de Frota (2010)⁴, Pelaez (2010)⁵ e Barroso et al. (2022)⁶.

A Lei No 8.974 foi revogada em 24 de março de 2005 e substituída pela Lei No 11.105⁷. Esta última teve seus dispositivos regulamentados pelo Decreto Presidencial No 5.591 publicado em 22 de novembro do mesmo ano⁸. Novamente, Pelaez (2010)⁵, Barroso et al. (2022)⁶ e, também, Amâncio e Teixeira (2008)⁹, descrevem os detalhes e os bastidores que levaram ao vácuo legal, ao “caos regulatório” ou ao “imbróglio jurídico” (expressões destes autores) na área de biossegurança entre 1998 e 2005. Tal vácuo foi consequência da suspensão judicial da decisão de 1998 da CTNBio em aprovar a liberação comercial da soja GM da empresa Monsanto, à época. Esta soja, denominada “RoundUp Ready” ou RR, possui um transgene capaz de conferir a tolerância a herbicidas que

possuem glifosato como princípio ativo. As disputas judiciais só foram superadas com a substituição da Lei 8.974 pela Lei 11.105 em 2005.

Praticamente todo o regramento disposto na Lei 8.974¹ foi mantido na nova Lei. As principais adições ou alterações na Lei 11.105 foram: (i) a inclusão de normas para “derivados” de OGMs, além daquelas já existentes para os próprios organismos; (ii) a disposição expressa do princípio da precaução para a proteção do meio ambiente, inovando o sistema jurídico brasileiro de proteção ambiental; (iii) a criação e a definição de competências do Conselho Nacional de Biossegurança (CNBS) vinculado à Presidência da República que, sendo hierarquicamente superior à CTNBio, possui a função fundamental de prestar assessoramento superior ao Presidente da República para (iv) a formulação e implementação da Política Nacional de Biossegurança (PNB); e (v) a autorização da produção e da comercialização da soja GM tolerante ao glifosato e que havia sido aprovada pela CTNBio durante a vigência da Lei 8.974^{1,7}.

A Lei de Biossegurança e o Foco em Organismos Geneticamente Modificados

A atual e vigente lei de biossegurança brasileira, portanto, restabeleceu, em 2005, as normas de segurança e os mecanismos de fiscalização das atividades relativas a OGMs e seus derivados. Segundo o artigo primeiro da Lei, ficaram literalmente regulamentadas “a construção, o cultivo, a produção, a manipulação, o transporte, a transferência, a importação, a exportação, o armazenamento, a pesquisa, a comercialização, o consumo, a liberação no meio ambiente e o descarte de OGMs e seus derivados, tendo como diretrizes o estímulo ao avanço científico na área de biossegurança e biotecnologia, a proteção à vida e à saúde humana, animal e vegetal, e a observância do princípio da precaução para a proteção do meio ambiente”⁷.

Segundo definições apresentadas no seu artigo terceiro, o foco principal da Lei 11.105 são os OGMs*, ou seja, “os organismos cujo material genético (ADN/ARN) tenha sido modificado por qualquer técnica de engenharia genética”. O ácido desoxirribonucleico (ADN ou DNA, do inglês *deoxyribonucleic acid*) e o ácido ribonucleico (ARN ou RNA, do inglês, *ribonucleic acid*) representam o “material genético que contém informações determinantes dos caracteres hereditários transmissíveis à descendência”. Ainda segundo a Lei, engenharia genética é “a atividade de produção e manipulação de moléculas de ADN/ARN recombinantes”. As moléculas de ADN/ARN recombinantes são “as moléculas manipuladas fora das células vivas mediante a modificação de segmentos de ADN/ARN natural ou sintético e que possam se multiplicar em uma célula viva ou, ainda, as moléculas de ADN/ARN resultantes dessa multiplicação; consideram-se também os

* É também objeto da Lei 11.105 as células-tronco embrionárias humanas. Esta classe de células é apresentada como foco da Lei pelo texto apresentado no artigo quinto⁷. Como não se tratam de células GM per se, não cabe sua inclusão e discussão na presente revisão.



segmentos de ADN/ARN sintéticos equivalentes aos de ADN/ARN natural”. Finalmente, para efeito da discussão proposta no presente artigo, “derivado de OGM é o produto obtido de OGM e que não possui capacidade autônoma de replicação ou que não contenha forma viável de OGM”⁷.

A Comissão Técnica Nacional de Biossegurança e a Liberação Comercial de OGMs e Derivados

Segundo as definições e disposições da Lei 11.105 e sua regulamentação pelo Decreto 5.591, ambos de 2005, o regramento das atividades com engenharia genética voltado à geração de OGMs e derivados manteve-se sob responsabilidade da CTNBio e, em instância superior e quando necessário, do CNBS⁷. Além da Lei e do Decreto, um conjunto de resoluções normativas e comunicados passaram a instruir as atividades com OGMs e derivados no Brasil. As resoluções normativas substituíram as instruções normativas e os comunicados anteriormente elaborados pela CTNBio quando da vigência da Lei 8.974^{4,5,6,9}.

Alguns números resultantes das atividades da CTNBio estão aqui apresentados: cerca de 480 Comissões Internas de Biossegurança (CIBio's) foram reconhecidas e um igual número de Certificados de Qualidade em Biossegurança (CQBs) foram emitidos pela CTNBio desde 1995; milhares de relatórios técnicos anuais de todas as instituições que operam com OGMs e derivados foram encaminhados pelas respectivas CIBio's e avaliados pela CTNBio; centenas de importações e exportações de OGMs e derivados; milhares de experimentos de campo ou “Liberações Planejadas no Meio Ambiente (LPMAs)” foram autorizados com os respectivos relatórios de conclusão das LPMAs também analisados e deliberados; e mais de 220 liberações comerciais de animais, plantas e microrganismos ou seus derivados foram aprovados pela CTNBio e pelo CNBS. Números evidentemente muito maiores resultarão caso sejam considerados todos os pleitos não aprovados ou mantidos em diligência pela Comissão⁶.

Até setembro de 2023, o maior número de OGMs aprovados pela CTNBio para liberação comercial e consumo no país é representado por vegetais como o milho (60 eventos GM), o algodoeiro (25 eventos), a soja (19 eventos), a cana-de-açúcar (8 eventos) e o eucalipto (7 eventos). Em sua ampla maioria, estes eventos GM de plantas contém transgenes capazes de conferir resistência a insetos e/ou tolerância/resistência a herbicidas. A resistência a nematoides e a tolerância à seca são também exibidas por dois destes eventos de soja. Um evento de milho também possui tolerância à seca, além de eventos específicos para a restauração da fertilidade para a produção de sementes e para aumento da termoestabilidade da enzima amilase. Entre os eucaliptos GM, um evento possui transgene capaz de promover um maior rendimento em volume de madeira.

Finalmente, a CTNBio aprovou um feijoeiro resistente ao vírus-do-mosaico-dourado (BGMV, do inglês, *bean golden mosaic virus*)* para plantio comercial e consumo^{6,10}.

Duas linhagens do *Aedes aegypti* transgênicos com reprodução limitada para redução da população de mosquitos transmissores da dengue estão entre os quatro animais GM aprovados pela CTNBio para liberação comercial até maio de 2023. Os outros dois animais incluem uma mariposa GM (*Spodoptera frugiperda*), alterada para maior controle biológico das lagartas-do-cartucho, como são também denominadas, e um salmão-do-atlântico GM (*Salmo salar*, peixe) com modulação do gene codificador do hormônio do crescimento, provendo maior crescimento e ganho de massa¹⁰.

Um total de seis vacinas para humanos, incluindo três para Covid, duas para dengue e uma vacina conjugada contra *Haemophilus* do tipo B e hepatite B foram aprovadas pela CTNBio até maio de 2023. Na área de vacinas veterinárias, 47 vírus e bactérias GM e antígenos recombinantes foram aprovados para uso principalmente em suínos e aves. Há também vacinas GM liberadas para uso comercial em cães, gatos, equinos, bovinos e tilápias (peixe)¹⁰.

Um total de sete produtos GM foram autorizados pela CTNBio para fins de terapia gênica até maio de 2023. Estes incluem um vírus Herpes Simplex do tipo 1 capaz de induzir a produção da proteína estimuladora de colônia de granulócitos e monócitos com emprego em imunoterapias, especialmente no tratamento de melanomas metastáticos; três vírus adenoassociados (AAV, do inglês, *adeno-associated virus*) dos sorotipos (i) AAV-2, com uma cópia normal do gene que codifica a proteína do epitélio do pigmento retiniano humano e, assim, utilizado para tratar certos tipos de deficiência visual; (ii) AAV-5, modificado para conter o gene codificador do fator de coagulação sanguínea VIII e tratamento de hemofilia; e (iii) AAV-9, contendo um transgene para a proteína de sobrevivência dos neurônios motores (do inglês, *Survival of Motor Neurons*, SMN) e utilizado no tratamento de pacientes pediátricos com atrofia muscular espinhal (AME); uma alfa-manosidase recombinante humana utilizada para tratamento pacientes que sofrem com a deficiência desta enzima lisossômica; e três linhagens de células T humanas autólogas utilizadas nos tratamentos de (i) leucemia linfoblástica aguda (LLA) de células B refratárias; (ii) mielomas múltiplos; e (iii) linfomas folicular e de grandes células B recidivantes ou refratários¹⁰.

Entre os 35 microrganismos GM aprovados comercialmente estão 27 linhagens de *Saccharomyces cerevisiae* (levedura) utilizadas na produção de etanol, farneseno (combustível), esteviol (adoçante) e vanilina (aromatizante); sete linhagens de *Prototheca moriformis* (microalga) empregada na produção de óleos triglicéridicos e derivados; e uma bactéria, *Corynebacterium*

* O feijoeiro resistente ao BGMV foi gerado pela tecnologia de interferência de RNA (RNAi, do inglês, *RNA interference*). O transgene inserido (DNA exógeno) codifica uma molécula de RNA capaz de promover a degradação de um RNA-alvo endógeno, natural da célula, impedindo a tradução deste RNA-alvo em uma proteína funcional. Pela tecnologia RNAi, portanto, não são produzidas proteínas heterólogas mas, sim, impedida a tradução normal de RNAs naturais da célula.

glutamicum, empregado em fermentação industrial para produção de derivados como aditivos para alimentação animal¹⁰.

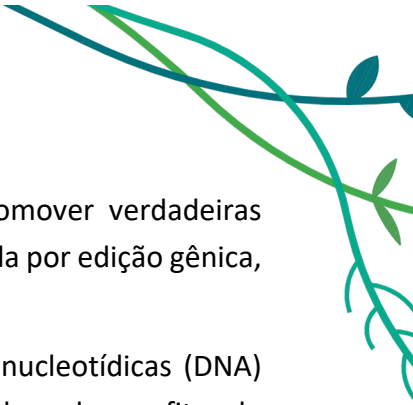
Entre os 18 derivados de leveduras, fungos filamentosos e bactérias GM aprovados pela CTNBio para uso comercial estão a proteína leg-hemoglobina e enzimas como subtilisina e outras proteases, alfa-amilases, alfa-glicosidase e hemicelulase; e aminoácidos como triptofano, valina, lisina e treonina. Salienta-se que, neste grupo, estão apenas os derivados dos OGMs e não os organismos propriamente ditos para emprego não-clínico¹⁰.

O que todos os OGMs acima referidos tem em comum é a integração, nos seus genomas, de sequências exógenas de DNA ou transgenes[†], isto é, segmentos de DNA construídos em laboratórios com o emprego das técnicas de engenharia genética. À exceção do feijoeiro resistente ao BGMV^{**}, todos os OGMs aprovados para uso comercial produzem novas proteínas – denominadas heterólogas, pela Lei. Assim, os OGMs podem ser identificados pela detecção das sequências de DNA recombinante (transgenes) ou RNAs por técnicas como a reação em cadeia da DNA-polimerase (PCR, do inglês, *polymerase chain reaction*) ou das suas proteínas heterólogas com o emprego de anticorpos e técnicas como Western blot, ELISA (do inglês, *enzyme-linked immunosorbent assay* – ensaio de imunoadsorção de enzima ligada) e variações destas técnicas. Os OGMs podem ser também identificados pelos seus novos fenótipos, é claro, como a tolerância/resistência a herbicidas ou a resistência a insetos ou antibióticos.

As Tecnologias Inovadoras de Melhoramento de Precisão

Nos últimos vinte anos, as técnicas de transformação genética, transgênese ou transgenia avançaram significativamente para todos os reinos de organismos biológicos, permitindo a geração de número crescente de OGMs e derivados. Em paralelo às técnicas de transgenia, novas ferramentas moleculares e estratégias de melhoramento genético foram também desenvolvidas. Embora tais ferramentas pertençam à engenharia genética e permitam a realização de modificações nos genomas celulares, os organismos resultantes não necessariamente possuem sequências de DNA exógeno ou recombinante integradas nestes genomas. Em inglês, as novas tecnologias foram denominadas *New Breeding Technologies* (NBTs ou Novas Tecnologias de Melhoramento) e *Precision Breeding Innovation* (PBI ou Inovação em Melhoramento de Precisão) e incluem técnicas como a mutagênese dirigida por oligonucleotídeos e a mutagênese sítio-dirigida, entre outras (ver

[†] Para simplificação, chama-se aqui “transgene” toda a sequência de DNA inserida no genoma por ferramentas de engenharia genética. Em biologia molecular, gene é a sequência específica de DNA necessária à síntese de um RNA, incluindo suas regiões reguladoras – promotor e terminador – e codificadoras (transcritas em RNA). Muitas outras sequências de DNA podem ser inseridas nos genomas sem que estas sejam, verdadeiramente, “genes” como, por exemplo, repetições e bordas invertidas, espaçadores, sequências de sítios de restrição (polylinkers), etc.

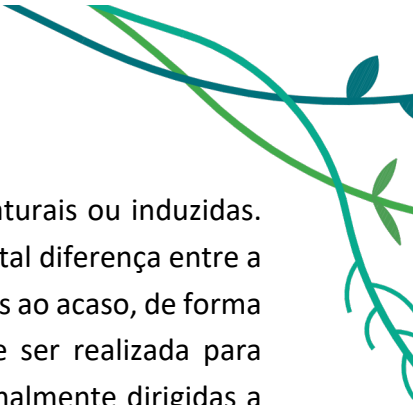


adiante). Na mutagênese sítio-dirigida, nucleases são empregadas para promover verdadeiras reedições do genoma de forma localizada, técnica mais popularmente conhecida por edição gênica, edição genômica ou edição de DNA^{11,12}.

As nucleases sítio-dirigidas são enzimas que reconhecem sequências nucleotídicas (DNA) específicas e realizam a hidrólise (clivagem, quebra, rompimento) de uma ou de ambas as fitas de DNA. O rompimento da dupla fita de DNA é letal às células caso não seja corrigido. As células naturalmente possuem outros grupos de enzimas e mecanismos de reparação das quebras de fitas simples e de fitas duplas de DNA. Os mecanismos mais comuns de reparação de quebras de ambas as cadeias de DNA empregam a recombinação homóloga (HR, do inglês, *homologous recombination*) e a junção de extremidades não homólogas (NHEJ, do inglês, *non-homologous end-joining*). Na maioria das quebras de fita dupla de DNA, a reparação não restitui a exata sequência original de nucleotídeos. A remoção de nucleotídeos (ablação ou deleção), a substituição, a inversão e, até mesmo, a adição de novos nucleotídeos (inserção) são frequentes. Tais modificações, caso ocorram em regiões regulatórias dos genes ou nas suas regiões codificadoras de proteínas, podem levar ao silenciamento destes ou à produção de proteínas anômalas que não mais terão atividade funcional normal. Assim, mutações são introduzidas no DNA por ferramentas de engenharia genética (nucleases sítio-dirigidas, por exemplo) mas a reparação do DNA e a geração de um novo fenótipo é consequência da maquinaria natural de reparação da célula. A depender da estratégia de edição gênica, nenhuma sequência exógena de DNA é integrada no genoma^{13,14}.

A mais famosa técnica de edição gênica emprega uma classe de nucleases abreviada por CRISPR-Cas, do inglês, *Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats-Cas Associated* ou agrupamentos de repetições palindrômicas curtas e regularmente inter espaçadas associadas à proteína Cas, uma nuclease dependente de RNA. Embora seja a mais conhecida, outras nucleases também permitem realizar modificações das sequências genômicas. Entre elas estão as nucleases do tipo “dedos-de-zinco” (*Zinc-finger Nucleases* ou ZFNs), as meganucleases e as proteínas efetoras semelhantes a ativadores da transcrição (*Transcription Activator-Like Effector Nucleases* ou TALENs). Para melhor compreensão dos mecanismos de edição realizados por estas enzimas, é recomendada a leitura das revisões de Mir *et al.* (2022)¹³, Shamshirgaran *et al.* (2022)¹⁴ e Warneck (2023)¹⁵.

Dois aspectos das NBTs/PBI são fundamentais destacar, principalmente nos métodos de edição gênica. Em primeiro lugar, as novas ferramentas de edição gênica permitem, sim, introduzir novas sequências exógenas de DNA nos genomas. Nas legislações de boa parte dos países, inclusive do Brasil, estes organismos editados com inserções de sequências exógenas de DNA são considerados OGMs e deverão seguir as regulamentações legais estabelecidas (no Brasil, a Lei 11.105 e legislação decorrente). No entanto, como explicado acima, organismos editados sem quaisquer sequências exógenas de DNA integradas nos genomas poderão ser considerados não-



OGMs por não serem distinguíveis de organismos que sofreram mutações naturais ou induzidas. Estes últimos organismos é que são o foco principal desta revisão. A fundamental diferença entre a indução clássica de mutações e a edição gênica é que as primeiras são realizadas ao acaso, de forma aleatória, e um programa extenso de seleção de organismos mutados deve ser realizada para encontrar aqueles mais adequados. Na edição gênica, as mutações são racionalmente dirigidas a sequências-alvo específicas do genoma. A seleção que segue tem foco específico em uma característica pré-definida, tornando-se muito mais prática e barata. Em segundo lugar, as quebras de dupla fita de DNA não são incomuns nas células e ocorrem até mesmo com certa frequência, seja em condições normais, seja em condições de estresse por agentes mutagênicos como radiações, produtos químicos e agentes infecciosos. Ao se selecionar um organismo “editado” sem a inserção de DNA exógeno, não é possível determinar se a edição ocorreu por agentes mutagênicos naturais ou por ferramentas de engenharia genética.

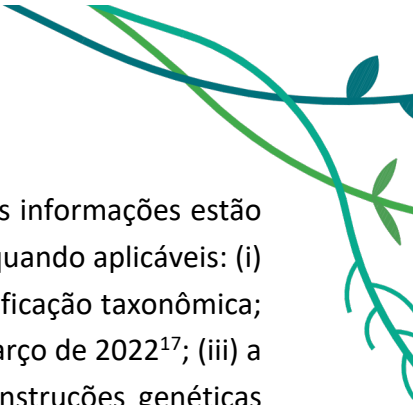
No Brasil, as NBTs/PBI foram formalmente chamadas de Tecnologias Inovadoras de Melhoramento de Precisão ou simplesmente TIMPs. Após muito debate no meio científico e, em particular, junto à CTNBio, nem todos os organismos e derivados das TIMPs são considerados OGMs para efeitos da Lei 11.105 e da legislação decorrente¹¹.

A Resolução Normativa No 16 da CTNBio e as Obrigações das Instituições Desenvolvedoras de TIMPs e seus Produtos no Brasil

Segundo Barroso et al. (2022)⁶, as TIMPs foram um dos principais temas de discussão nas reuniões da CTNBio entre 2014 e 2019. Tais discussões ocorreram inicialmente em duas subcomissões extraordinárias especificamente designadas. Ao final, foi produzida e publicada uma única normativa que passou a orientar as avaliações das TIMPs e seus produtos para os mais diferentes mercados e áreas do conhecimento. Esta normativa é a Resolução Normativa No 16 (RN16) da CTNBio publicada em 15 de janeiro de 2018¹⁶. Esta Resolução, desde então, oferece o respaldo necessário para que as decisões da CTNBio referentes às TIMPs e seus produtos tenham legalidade e sejam corretas tecnicamente.

Pela RN16, a CTNBio estabeleceu os requisitos técnicos para a apresentação de consultas à Comissão sobre as TIMPs e seus produtos. A redação foi baseada nos documentos regulatórios de outros países como Austrália, Argentina, Chile, Colômbia, EUA e Japão^{12,13}. A partir das consultas, a CTNBio emitirá parecer sobre se um produto resultante de TIMPs pode ou não ser considerado um não-OGM.

Assim, a pessoa jurídica interessada em liberar comercialmente um organismo resultante das TIMPs ou seus derivados precisará encaminhar à CTNBio informações detalhadas sobre o



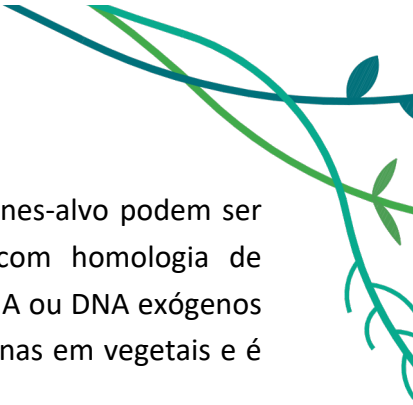
organismo, incluindo os métodos utilizados para o seu desenvolvimento. Estas informações estão detalhadas no Anexo II da RN16. Resumidamente, deverão ser apresentadas, quando aplicáveis: (i) as descrições dos organismos originais (parentais) como, por exemplo, a classificação taxonômica; (ii) a classificação de risco conforme a Resolução Normativa No 18 de 22 de março de 2022¹⁷; (iii) a TIMP especificamente empregada, a estratégia definida e os mapas das construções genéticas utilizadas, bem como o objetivo e os usos pretendidos dos organismos resultantes e de seus derivados; (iv) a descrição dos genes ou elementos genéticos manipulados e suas funções específicas; (v) a caracterização molecular do resultado da manipulação no organismo receptor como, por exemplo, o número de sequências genômicas, o número de alelos, etc; (vi) a localização da região manipulada no genoma; (vii) a identificação da presença de modificações genéticas não intencionais denominadas, em inglês, off-targets; e, finalmente (viii) a descrição detalhada do produto da expressão da região genômica manipulada. Quando se tratar de derivados dos organismos resultantes de TIMPs, incluindo descendentes, linhagens ou produtos deles obtidos, será ainda necessário comprovar: (ix) ausência de moléculas de ADN/ARN recombinantes por meio de métodos moleculares; (x) o histórico de uso comercial em outros países; (xi) os cuidados que serão empregados para monitorar os organismos utilizando pelo menos duas estratégias diferentes; e (xii) explicação de como foi avaliada a possibilidade de existência off-targets¹⁶.

Conforme anteriormente exposto, não só as atividades com CRISPR-Cas e outras ferramentas de edição gênica são consideradas TIMPs. Em seu primeiro anexo, a RN 16 apresenta e define outros exemplos de TIMPs, conforme apresentados a seguir¹⁶:

A indução do *Florescimento Precoce* que pode ser realizada a partir da expressão transitória ou temporária de transgenes com o emprego de vetores virais que não se integram nos genomas. Alternativamente, o florescimento precoce pode ser obtido pelo silenciamento ou pela superexpressão de transgenes relacionados ao florescimento pela inserção destes no genoma vegetal. Portanto, os vegetais contendo transgenes serão, sim, OGMs. Porém, os transgenes poderão ser removidos a partir de cruzamentos dos OGMs e segregação, gerando descendentes que não mais terão DNA recombinante inserido em seus genomas, ou seja, vegetais não-OGMs¹⁶.

A denominada *Tecnologia para a Produção de Sementes* fundamenta-se na inserção de transgenes no genoma de linhagens vegetais naturalmente macho-estéreis para fins de restauração da fertilidade. Assim, estas linhagens OGMs poderão produzir sementes. Porém, a condição de macho-esterilidade será mantida na progênie. Não haverá transmissão do DNA recombinante para a descendência. Somente a linhagem parental será OGM. A descendência será não-OGM¹⁶.

Pelo Melhoramento Reverso, busca-se inibir a recombinação meiótica em plantas heterozigotas selecionadas para uma característica de interesse com vistas a produzir linhagens parentais homozigotas e livres de DNA recombinante¹⁶.



As sequências de DNA reguladoras da transcrição (promotores) de genes-alvo podem ser modificadas pela metilação direcionada por RNAs interferentes (RNAi) com homologia de sequências, inibindo a transcrição destes genes-alvo. Não há integração de RNA ou DNA exógenos nos genomas. Esta técnica pode ser utilizada em qualquer ser vivo e não apenas em vegetais e é denominada *Metilação de DNA Dependente de RNA*¹⁶.

Conforme anteriormente descrito, complexos de proteínas (nucleases) ou proteínas combinadas a RNAs (ribonucleoproteínas) são projetadas e produzidas para promover mutagênese sítio-dirigida nos genomas de microrganismos, plantas, animais e células humanas. Esta metodologia é denominada *Mutagênese Sítio-dirigida*, Novamente, não há integração de DNA ou RNA exógenos nos genomas e, sim, modificações das sequências do genoma por mutagênese. Isto pode envolver ablação (deleção), inversão, substituição e trocas de (segmentos de) nucleotídeos já existentes no genoma. É também possível realizar adições de novos nucleotídeos nos genomas (inserções). Porém, estes novos (segmentos de) nucleotídeos serão adicionados por enzimas naturais de reparação do genoma (DNA-polimerases) e não por segmentos artificiais ou sintéticos de DNA¹⁶.

De forma semelhante, porém empregando oligonucleotídeos racionalmente sintetizados para determinadas sequências-alvo de DNA e que são introduzidos nas células de microrganismos, plantas, animais e humanos, a *Mutagênese Direcionada por Oligonucleotídeos* poderá causar substituições, inserções ou deleções na sequência-alvo por mecanismos naturais de reparação celular, principalmente por recombinação homóloga. As sequências-alvo terão um ou alguns poucos nucleotídeos alterados o que pode ser suficiente para uma marcante alteração de fenótipo¹⁶.

A *Agroinfiltração/Agroinfecção* de folhas ou tecidos somáticos de outros órgãos vegetais por bactérias GM do gênero *Agrobacterium sp.* (atualmente *Rhizobium sp.*) ou vetores virais contendo construções gênicas de interesse pode ser realizada para promover a expressão temporária dos transgenes e em altos níveis especificamente no local da infiltração/infecção. Desde que a modificação genética não seja transmitida às gerações subsequentes, estes organismos poderão ser considerados não-OGMs¹⁶.

A técnica de *RNAi de Uso Tópico/Sistêmico* emprega moléculas de RNA fita dupla (dsRNA, do inglês, *double stranded RNA*) com sequência homóloga ao(s) gene(s)-alvo para silenciamento específico desse(s) gene(s). As moléculas recombinantes de dsRNA podem ser introduzidas/absorvidas pela célula a partir do ambiente, mas não integram diretamente (como RNA) ou indiretamente (como DNA transcrito reversamente) nos genomas¹⁶.

Por fim, a inoculação de seres vivos com *Vetores Virais* recombinantes de DNA ou RNA, capazes de expressar a modificação genética nas células e amplificar o gene de interesse pelos

mecanismos de replicação viral, sem que haja modificação do genoma das células hospedeiras, caracterizam estas últimas como não-OGMs¹⁶.

Após as análises das informações encaminhadas nas consultas, a CTNBio poderá concluir que os organismos resultantes das TIMPs acima são não-OGMs. Conforme Barroso *et al.* (2022)⁶, a CTNBio atribuirá um “selo” de não-OGM e as plantas, vacinas veterinárias e microrganismos poderão ser registrados no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) por meio de procedimentos similares aos utilizados para um produto convencional. O mesmo vale para os registros na Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) do Ministério da Saúde quando os produtos das TIMPs forem destinados a tratamentos de saúde ou alimentação de humanos. Por outro lado, caso o organismo ou seu derivado resultante de TIMPs seja considerado um OGM, todos os requerimentos de biossegurança estabelecidos pela Lei 11.105 e legislação decorrente deverão ser atendidos⁶.

Produtos de TIMPs Aprovados para Liberação Comercial como Não-OGMs

Até maio de 2023, um total de 42 pareceres relativos às TIMPs e seus produtos foram emitidos pela CTNBio em resposta às cartas-consulta. A relação destes pareceres está resumidamente apresentado nas páginas da CTNBio na *internet*¹⁸. Destas consultas, a CTNBio avaliou e aprovou como não-OGMs um total de 17 produtos resultantes do emprego de TIMPs. Os principais organismos aprovados incluem (i) leveduras para uso industrial e para a produção de biocombustíveis como etanol e biodiesel de segunda geração a partir de substratos lignocelulósicos (madeira e restos do processamento industrial, especialmente da cana-de-açúcar); (ii) tilápias (peixes) com maior rendimento em massa muscular (carne). Os peixes foram editados geneticamente por CRISPR-Cas e, como consequência, ganham mais peso em menos tempo, consumindo menor quantidade de ração do que as variedades convencionais; (iii) sêmen de um touro sem chifres (*hornless cow*) gerado pela edição gênica mediada por TALENs. A própria empresa requerente solicitou, mas tarde, o cancelamento do processo pois no genoma dos bovinos descendentes foi encontrado material genético de outra espécie, mais especificamente do plasmídeo (vetor de DNA) utilizado na edição gênica^{6,16}.

Conclusão

Por meio da Resolução Normativa No 16 de 15 de janeiro de 2018, a CTNBio estabeleceu os requisitos técnicos para a apresentação de consultas à Comissão sobre as Técnicas Inovadoras de Melhoramento de Precisão (TIMPs) e os organismos ou derivados destas. A partir das análises do material encaminhado à CTNBio, muitos dos organismos resultantes do emprego das TIMPs

poderão ser considerado não-OGMs e, portanto, não necessitam atender às várias exigências da Lei 11.105 e legislação decorrente. De forma resumida, a CTNBio tenderá a não considerar OGMs os organismos resultantes de TIMPs que não apresentem sequências exógenas de DNA integradas nos seus genomas, ou seja, sem a presença de moléculas recombinantes de DNA/RNA.

Agradecimentos

O autor é profundamente grato ao Estado do Rio Grande do Sul, por intermédio da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS), pelo apoio financeiro concedido ao projeto “Cluster Tecnológico Gaúcho de Edição Gênica” do qual é membro integrante, aprovado junto ao Edital FAPERGS 02/2022 - Inova Clusters Tecnológicos (Termo de Outorga 22/2551-0000834-8).

Referências

- 1 - Brasil. Lei n. 8.974, de 5 de janeiro de 1995 (revogada). Estabelece normas de segurança e mecanismos de fiscalização no uso das técnicas de engenharia genética. Diário Oficial da União. Janeiro de 1995. Disponível em: https://www.planalto.gov.br/ccivil_03/LEIS/L8974.htm
- 2 - Brasil. Decreto n. 1.752, de 20 dezembro de 1995 (revogado). Regulamenta a Lei n. 8.974, dispõe sobre a vinculação, competência e composição da CTNBio e dá outras providências. Diário Oficial da União. Dezembro de 1995. Disponível em: https://www.planalto.gov.br/ccivil_03/decreto/D1752.htm
- 3 - Brasil. Constituição da República Federativa do Brasil, de 5 de outubro de 1988. Diário Oficial da União. Outubro de 1988. Disponível em: https://www.planalto.gov.br/ccivil_03/Constituicao/Constituicao.htm
- 4 - Frota, E.B. 2010. Lei de biossegurança (Lei n. 11.105/2005). Jus Navigandi 2378. <https://jus.com.br/artigos/14113>
- 5 - Pelaez, V. 2010. Antecedentes e conflitos na implementação das leis nacionais de biossegurança. Revista Brasileira de História da Ciência 3(1): 16-30.
- 6 - Barroso, P.A.V., Finardi, F., Sbampato, I. 2021. CTNBio 25 anos - Comissão Técnica Nacional de Biossegurança sob o Olhar de Seus Presidentes. Brasília, Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovações.
- 7 - Brasil. Lei n. 11.105, de 24 de março de 2005. Estabelece normas de segurança e mecanismos de fiscalização sobre OGM e seus derivados. Diário Oficial da União. Março de 2005. Disponível em: https://www.planalto.gov.br/ccivil_03/Ato2004-2006/2005/Lei/L11105.htm
- 8 - Brasil. Decreto n. 5.591, de 22 novembro de 1995. Regulamenta dispositivos da Lei n. 11.105 que estabelece normas de segurança e mecanismos de fiscalização sobre OGMs e seus derivados. Diário

Disponível em: [cm](#)
no, B. (Ed.) Revolução

- Revista Bio Diverso (ISSN 2965-5765) | www.ufrgs.br/biodiverso | Vol. 4 (Art.4 e2)

[normativas%3Fp_p_id%3D101_INSTANCE_OgW431Rs9dQ6%26p_p_lifecycle%3D0%26p_p_state%3Dnormal%26p_p_mode%3Dview%26p_p_col_id%3Dcolumn-2%26p_p_col_count%3D3%26_101_INSTANCE_OgW431Rs9dQ6_advancedSearch%3Dfalse%26_101_INSTANCE_OgW431Rs9dQ6_keywords%3D%26_101_INSTANCE_OgW431Rs9dQ6_delta%3D15%26p_r_p_564233524_resetCur%3Dfalse%26_101_INSTANCE_OgW431Rs9dQ6_cur%3D2%26_101_INSTANCE_OgW431Rs9dQ6_andOperator%3Dtrue](#) Acessado em 8 de novembro de 2023.

- 18 - CTNBio 2023. Tecnologias Inovadoras de Melhoramento Genético (RN16). http://ctnbio.mctic.gov.br/tecnologias-inovadoras-de-melhoramento-genetico-rn16/-/document_library_display/cuSvsid1CsUD/view/2318634?_110_INSTANCE_cuSvsid1CsUD_redirect=http%3A%2F%2Fctnbio.mctic.gov.br%2Ftecnologias-inovadoras-de-melhoramento-genetico-rn16-%3Fp_p_id%3D110_INSTANCE_cuSvsid1CsUD%26p_p_lifecycle%3D0%26p_p_state%3Dnormal%26p_p_mode%3Dview%26p_p_col_id%3Dcolumn-2%26p_p_col_count%3D1 Acessado em 8 de novembro de 2023.