

A EDIÇÃO GÊNICA COMO FERRAMENTA DE DIAGNÓSTICO LABORATORIAL: UMA REVISÃO INTEGRATIVA

Oziel Aguiar de Oliveira ¹
Tássia Liz Araújo dos Santos Lessa ²

RESUMO

O conceito de terapia gênica surgiu durante os anos 60/70. Em meados dos anos 80, a edição gênica; e a partir de 2012, deu-se a ascensão das tecnologias de alta sensibilidade e especificidade na condução da edição do DNA humano, e possibilitaram o avanço de técnicas que utilizam na edição de genes o aprimoramento e o acesso a testes de diagnósticos rápidos, fáceis, precisos, de baixo custo, sem instrumentos e de pronto uso em ponto de atendimento (POC). Compreendeu-se, buscar os aspectos que se relacionam ao uso da edição gênica como ferramenta de diagnóstico. Objetivou-se, analisar, caracterizar e descrever os mecanismos das principais técnicas de interesse clínico, e nortear o uso gênico analítico, identificar e conceituar a utilização de CRISPR/Cas. Tratou-se de uma revisão integrativa de literatura que buscou levantar, relacionar, analisar e interpretar os dados a síntese do conhecimento e sua aplicabilidade intrínseca a ciência dos genes. Pesquisou-se nas bases de dados: Science/AAA, MEDLINE/Pubmed e SciELO e “Outros” sobre a edição gênica e os aspectos que influenciam sua utilização como condição diagnóstica em suas interrelações a biossegurança, bioética, biotecnológica, diagnóstica laboratorial e biomédica contemporânea e social com abordagem em terapias e edição gênica, engenharia genética e biologia molecular. De forma prática e objetiva, as Biotecnologias se adaptam as necessidades individuais, sociais e coletivas; a Bioética se caracteriza a condição humana no processo; a Biossegurança assegura a manutenção do ecossistema e o Diagnóstico clínico positiva a eficácia gênica.

Palavras chave: Edição gênica; Terapia de genes; Diagnóstico laboratorial; Biologia molecular.

¹ Oziel Aguiar de Oliveira do curso de Biomedicina do Centro Universitário UniFTC de Vitória da Conquista-Ba (UniFTC/VDC), e-mail: ozielguiar@gmail.com.

² Prof.^a Dra. Orientadora do Centro Universitário UniFTC de Vitória da Conquista (UniFTC/VDC), Biomédica, e-mail: tassia.lessa@ftc.edu.br.

GENE EDIT AS A LABORATORY DIAGNOSTIC TOOL: AN INTEGRATIVE REVIEW

ABSTRACT

The concept of gene therapy emerged during the 60's/70's. In the mid-1980s, gene editing; and from 2012, there was the rise of high sensitivity and specificity technologies in the conduct of human DNA editing, and made possible the advancement of techniques that use gene editing, improvement and access to quick, easy diagnostic tests, accurate, low-cost, instrument-free and ready to use at the point of care (POC). It was understood that the search for aspects related to the use of gene editing as a diagnostic tool was sought. The objective was to analyze, characterize and describe the mechanisms of the main techniques of clinical interest, and guide the use of gene analysis, identify and conceptualize the use of CRISPR/Cas. It was an integrative literature review that sought to raise, relate, analyze and interpret data the synthesis of knowledge and its intrinsic applicability to the science of genes. Research was carried out in the following databases: Science/AAA, MEDLINE/Pubmed and SciELO and "Others" on gene editing and the aspects that influence its use as a diagnostic condition in its interrelationships with biosafety, bioethics, biotechnology, laboratory diagnostics and contemporary biomedical and social with an approach in therapies and gene editing, genetic engineering and molecular biology. In a practical and objective way, Biotechnologies adapt to individual, social and collective needs; Bioethics characterizes the human condition in the process; Biosafety ensures the maintenance of the ecosystem and Positive Clinical Diagnosis of gene efficacy.

Keywords: Gene Editing; Gene therapy; Laboratory Diagnostic; Molecular biology.

1 INTRODUÇÃO

Os avanços tecnológicos e da engenharia genética, evidenciam o surgimento de novas ferramentas com características específicas por meio da edição gênica. Isso já ocorre através dos melhoramentos genéticos envolvido na segurança alimentar, e nos últimos anos, ao uso em terapias virais e tumorais com sucesso. A edição gênica, é basicamente, a capacidade de incluir ou excluir genes específicos no genoma (editado-o). Tal possibilidade, vem abrindo espaço para o desenvolvimento de variadas técnicas que suscitam a necessidade humana, e detre tantas, o uso para diagnóstico clínico devido sua grande eficiência, eficácia, precisão e segurança no diagnóstico.

Sistematicamente, os ácidos nucleicos são amplamente sensíveis e, rapidamente adaptáveis as metodologias clínicas para diagnóstico em que se empregam as técnicas de edição gênica. (MYHRVOLD et al., 2018). Caetano et al. (2019), a situa como uma técnica potencial devido as suas características específicas, e custo relativamente menor se comparado a outras técnicas que necessitam de equipamentos. Segundo Arend *et al.* (2017), tais sistemas de edição, simplificam e ampliam o alcance da genômico ao se conhecer os mecanismos que clivam o (DNA), ou mesmo, a partir de uma sequência de RNA. Dentre estas tecnologias de edição, destaca-se o CRISPR, Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats (Repetições Palindrômicas Curtas Agrupadas e Regularmente Interespaçadas). Foi identificado mediante estudo baseado na defesa bacteriana, pesquisadores observaram que certas sequências de DNA não pertenciam naturalmente ao genoma bacteriano, nomeando estas sequências de CRISPR. (REIS & OLIVEIRA, 2019).

Estas tecnologias biomédicas em desenvolvimento intercalam diversos fatores biotecnológicos, bioéticos e de biossegurança em sua manipulação, melhoramento, uso terapêutico e investigação para diagnósticos. O estudo busca estes aspectos que influenciam o uso de tecnologia de edição gênica como ferramenta de diagnóstico clínico (laboratorial ou em campo), abordando terapia e edição gênica, engenharia genética, biologia molecular e diagnósticos.

2 OBJETIVOS

Caracterizar e descrever os mecanismos de edição gênica e CRISPR como ferramenta de diagnóstico em seus aspectos biotecnológicos, bioéticos e de biossegurança e os parâmetros que envolvem o uso da técnica.

3 METODOLOGIA

O estudo é uma revisão integrativa sobre os mecanismos de edição gênica e CRISPR como ferramenta de diagnóstico e os parâmetros que influenciam a sua utilização. Adotou-se a questão norteadora: “Quais são os aspectos que norteiam o uso da edição gênica como ferramenta de diagnóstico?”.

Foram incluídas referências em consulta às principais bases e periódicos “(inter)nacionais”: MEDLINE/Pubmed (Medical Literature Analysis and Retrieval System); SciELO (Scientific Eletronic Library); Science/AAAS (Associação Americana para o Avanço da Ciência), e integrado os periódicos nacionais: Revista de Biotecnologia & Ciência - UEG (Universidade Estadual de Goiás); BJSCR (Brazilian Journal of Surgery and Clinical Research) Revista Veredas do Direito (Programa de Pós-graduação em Direito da Dom Helder Escola Superior - DHES); e Revista Pesquisa FAPESP (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo). Usaram-se como descritores: “Biologia molecular”, “Diagnóstico laboratorial”, “Edição gênica”, “Terapia de genes” e suas respectivas traduções para o inglês: “Gene Editing”, “Gene therapy”, “Laboratory Diagnostic” and “Molecular biology.” Compreenderam estudos publicados entre 2016 a 2021 com dados sobre edição gênica e diagnósticos em Resultado, discussões e conclusões essencialmente. Para critérios de (inclusão x exclusão) estabeleceu-se: 1º) recorte temporal a partir de 2016; 2º) edição gênica e 3º) diagnóstico e/ou diagnóstico laboratorial em terapia gênica/molecular. Para o tratamento, utilizou-se como instrumento de coleta de dados: formulário formatado (validado por Ursi, 2005). (DANTAS *et. al.*,2021). Adaptado pelo autor para: A. Identificação; B. Periódico; C. Metodologia; D. Objetivos; E. Resultados e Conclusões; F. Gênica; G. Biotecnologia; H. Ética e I. Diagnósticos. Foram separados e analisados a partir de dois grupos: 1º) Principais bases/periódicos. E 2º) Demais periódicos.

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

TECNOLOGIA DO DNA E EDIÇÃO GÊNICA

Edição gênica e aplicabilidades

A partir dos avanços do padrão de herança monogênica de Gregor Mendel, precedido pelo modelo revolucionário da dupla fita de (DNA) por James Watson, bioquímico americano e Francis Crick, biofísico britânico; foi possível em pesquisas, a separação gênica em locais específicos e, então o progresso da engenharia genética neste processos. Gonçalves & Paiva (2017), em seu estudo entende neste contexto, a edição gênica como a capacidade de melhoramento genético pela correção de genes alterados (mutados) ou recombinações sítio-específicas havendo como alvo o tratamento terapêutico.

Furtado (2019), considera que a edição gênica (ou edição genética), baseia-se na eliminação de trechos específicos do (DNA) e inserção de novos genes no local, podendo ser editadas células germinativas ou somáticas. Destas variabilidades funcionais é possível alterar as informações genéticas em diversas espécies, tipos celulares e organismos. Incluem-se as capacidades corretivas de mutações, responsáveis por doenças hereditárias. (CAETANO et al., 2019). Neste modelo, Santos et al., (2017), evidencia então o primeiro tratamento realizado com sucesso, sendo o de uma paciente com deficiência em adenosina desaminase (ADA), que afeta o sistema imunitário; e o tratamento gênico aplicado, foi através da retirada de leucócitos e inserindo "*in vitro*" o gene que leva a suprir a deficiência em adenosina, e em seguida, reintroduzido ao sistema circulatório da doente.

Biotecnologia

As modificações pontuais no genoma humano é objetivo da Medicina desde o conhecimento do (DNA) como unidade básica da hereditariedade. (GONÇALVES & PAIVA, 2017). E, com o avanço das técnicas de edição, tem-se tornado cada vez mais eficaz em pesquisas biomédicas, diagnósticos, laboratoriais, tratamentos, agropecuárias e ambientais. (FURTADO, 2019). Segundo, Santos et al., (2017), a

evidência comprova-se através das modificações genéticas envolvidas nas doenças humanas que possam ser investigadas, como as terapias, uso para eliminação viral de células infectadas, cessação tumoral e o tratamento de doenças monogênicas.

Gumarães (2016), relata que os procedimentos para estas ferramentas biotecnológicas, já estão ao alcance dos laboratórios de genética conferindo autonomia aos pesquisadores. E com o aprimoramento da transferência de material genético exógeno a célula através da proteína (Cas9), envolvida no sistema imunológico adaptativo bacteriano, chamado de (CRISPR), e o seu potencial uso como ferramenta de edição em células humanas. (CAETANO et al., 2019).

O CRISPR, Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats (Repetições Palindrômicas Curtas Agrupadas e Regularmente Interespçadas), é tecnologia de edição genica (uma sequência), sendo identificada em 1987 em estudo na bactéria *Escherichia coli*, pesquisadores japoneses observaram certas sequências de DNA pedaços que não pertenciam naturalmente ao genoma bacteriano. (REIS & OLIVEIRA, 2019).

Caetano et al., 2019, valida que neste sistema, a bactéria insere parte do seu (DNA) no bacteriófago viral e o intercala em sequências repetidas (Cas1 e Cas2) promovendo a clivagem de uma porção do (DNA) invasor. Os fragmentos da clivagem são introduzidos em seu genoma e formam um complexo (tracRNA e crRNA), associado a endonuclease Cas9, responsável por direcionar e promover a clivagem do DNA invasor impossibilitando a progressão da infecção. O (CRISPR) utiliza no processo, somente 3 moléculas: i) a nuclease (Cas9), na clivagem sensível e específica do (DNA); ii) um (RNA) guia, guia o complexo até o alvo e iii) o (DNA) alvo é editado. (GONÇALVES & PAIVA, 2017).

Santos *et al.*, (2017), evidencia a facilidade em que modificações genéticas envolvidas nas doenças humanas possam ser investigadas, ainda, a alta versatilidade, eficácia, especificidade e facilidade do uso são vantagens do sistema (CRISPR). Tais características são fundamentais para diagnósticos clínicos é utilizado para identificação de (DENV), (ZIKV) e (SARS-CoV-2). Siqueira & Almeida (2018), confirma ainda em sua pesquisa que o uso da biologia molecular como ferramenta de diagnóstico são alternativas economicamente viáveis eficazes.

Diagnósticos

Conforme Siqueira e Almeida (2018), as metodologias de detecção de (DNA) possuem potencial de melhora a clínica, favorece o tratamento, reduz os custos, toxicidade e as terapias desnecessárias. Seu uso clínico atende ainda as principais características. “Um diagnóstico ideal combinaria a sensibilidade, especificidade e flexibilidade dos diagnósticos de ácidos nucleicos com a velocidade e facilidade dos testes baseados em antígenos.” (MYHRVOLD et al., 2018, p1, traduzido pelo autor).³ Furtado (2018) destaca ainda, que as técnicas mais atuais de edição gênica, consistem nas enzimas modificadas pela ação humana: as *meganucleases*; *zinc-finger nucleases*; *transcription activator-like effector nucleases* e o (CRISPR/Cas). O (CRISPR), segundo Gonçalves e Paiva (2017), desde 2012 distingue-se como uma das principais ferramentas biotecnológicas de edição.

Das necessidades de diagnósticos que possam ser rapidamente adaptados e implantados em diversos ambientes, as pandemias mostraram seus efeitos preocupantes quanto a eficácia das vacinas e tratamentos, e nenhum teste permitindo a identificação específica. (PUIG et al., 2021). Segundo Myhrvold et al., (2018), as limitações das tecnologias de diagnósticos existentes, estas contribuem para a circulação e infecção, pois, até que sejam confirmados clinicamente, tem-se ainda, como desafio adicional, a diferenciação entre os vírus causadores das infecções com sintomas semelhantes. A pandemia de (COVID-19) destacou a necessidade de diagnósticos que possam ser rapidamente adaptados e implantados em diversos ambientes, visto que as variantes do (SARS-CoV-2) se mostraram preocupantes. (PUIG et al., 2021).

Em seu artigo publicado na Science/AAAS: Diagnóstico viral implantável em campo usando CRISPR-Cas13, (MYHRVOLD et al., 2018, traduzido pelo autor).⁴ Utilizou a técnica (CRISPR/Cas) para detecção de (ZIKV) e (DENV). A técnica do estudo emparelha SHERLOCK (desbloqueio repórter enzimático específico de alta sensibilidade), (*Ibid.*, 2018, traduzido pelo autor).⁵ E HUDSON. (SHERLOCK) é uma plataforma desenvolvida para detecção de ácido nucleico baseada em Cas13,

³ “An ideal diagnostic would combine the sensitivity, specificity, and flexibility of nucleic acid diagnostics with the speed and ease of use of antigen-based tests.”

⁴ “Field-deployable viral diagnostics using CRISPR-Cas13”

⁵ “SHERLOCK (specific high-sensitivity enzymatic reporter unlocking)”

semelhante à utilizada para teste de antígenos. (HUDSON) é a técnica desenvolvida para lizar as partículas virais e inativar os altos níveis de Rnase e baseia-se no aquecimento prévio das amostras diagnósticas não extraídas, diretamente de fluidos corporais (urina ou saliva), para detecção em (SHERLOCK).

Conforme o autor, o diagnóstico é sensível, específico livre de instrumentos e rapidamente implantável com amostras em baixas concentrações (quanto 1 cópia por μ l). A técnica combina amplificação isotérmica via amplificação por polimerase recombinase (RPA) baseada em (Cas13). Das amostras utilizadas, comparando a sensibilidade e especificidade com outros testes de amplificação de ácido nucleico (RT-PCR), em ambos ensaios, positivos e negativos obtiveram: (100% de sensibilidade, 100% de especificidade e 100% de concordância). Não houve falsos positivos quando testado em urina e água saudáveis. (MYHRVOLD et al., 2018). Caetano *et al.*, (2019), afirma em estudo que a técnica (CRISPR/Cas), demonstra estas possibilidades, bem como os riscos, os desafios e cuidados para área laboratorial.

Puig et al., (2021), traz em seu artigo, também publicado na Science/AAAS e intitulado: SHERLOCK minimamente instrumentado (miSHERLOCK) para diagnóstico no ponto de atendimento baseado em CRISPR de SARS-CoV-2 e variantes emergentes. (PUIG et al., 2021, traduzido pelo autor).⁶ Este é um estudo mais recente e ultrasensível utilizando (CRISPR/Cas) para detecção de (SARS-CoV-2). São baseados em enzimas (Cas13a) ou (Cas12a), e foi direcionado para teste de ponto de atendimento (POC), é chamado de (miSHERLOCK) (minimamente instrumentado SHERLOCK). (*Ibid.*, traduzido pelo autor).⁷ O diagnóstico é direcionado para “*Point of Care Testing (POCT)*” ou ponto de atendimento (POC), rápido, autônomo e de baixo custo em plataforma capaz de detecção universal simultânea de (SARS-CoV-2) e variantes, sem instrumentos a partir de saliva e uso de reagentes estáveis à temperatura ambiente. Ocorre incubação da amostra na plataforma alimentada por bateria e interpretação habilitada para uso em celular (via APP). Outros testes de diagnósticos baseados em (CRISPR) para (SARS-CoV-2) descritos, usaram “*kits*” comerciais de extração de (RNA) para preparação de amostras.

O autor descreve a plataforma como um processo semi-automático, com extração do (DNA) viral sem instrumentos e em concentração de saliva não

⁶ “*Minimally instrumented SHERLOCK (miSHERLOCK) for CRISPR-based point-of-care diagnosis of SARS-CoV-2 and emerging variants.*”

⁷ “*Point of Care Testing (POCT), miSHERLOCK (minimally SHERLOCK)*”

processada. O procedimento consiste em: ligar o dispositivo (miSHERLOCK); introduzir (4 ml) da saliva do paciente na câmara de preparação das amostras; adicionar o tampão (40 μ l of 1 M DTT and 500 mM EGTA lysis buffer). A saliva introduzida segue pela membrana de polietersulfona (PES), que é filtrante, onde acumula e concentra o (RNA) viral. Transferem-se as colunas de fluxo para a câmara de reação pressionando um êmbolo e liberando a membrana PES e a água armazenada em grânulos da reação (SHERLOCK). Após (55'), visualiza o ensaio diretamente ou usando um aplicativo de smartphone que quantifica a saída fluorescente e automatiza a interpretação do resultado.

Biossegurança e Bioética

Em atuação conjunta com a biotecnologia, Reis e Oliveira (2019), descreve que a biossegurança é mais pragmática que a bioética, pois, implementa segurança direta em área de intervenção: investigação, ensino, produção, distribuição biológica, e a prestação serviços relacionados. O panorama é ser seguro para profissionais, pacientes, meio ambiente e a expressão do gene, em geral, por toda a vida. (GONÇALVES & PAIVA, 2017). Segue ainda, segundo Rodrigues (2018), o princípio da precaução e preservação do patrimônio genético animal e não humano e suas interconexões entre ecossistemas face aos déficits de cognição da ciência.

Segundo Furtado (2019), ao intervir sobre o (DNA), a edição genética tem igualmente a capacidade de produzir os efeitos em escala macro ambiental. Como exemplo, as aplicações sistêmicas que consistem na otimização do mecanismo “*gene drive*” (indução genética), os organismos geneticamente modificados, são dispostos ao ecossistema disseminando determinada variante genética, podendo prevalecer sobre espécimes anteriormente presentes no meio.

Conforme Reis e Oliveira (2019), tratando sobre biossegurança e bioética em análise “jusfilosófica”, conceitualmente, para a bioética, a gestão da segurança biotecnológica suscita questionamentos e medidas compatíveis a complexidade do tema. Considera então a bioética global e importante como reflexão, dada a possibilidade de controle do genoma humano destacando que a bioética é moral e analítica, servindo a ponderar os riscos inerentes. Gonçalves e Paiva (2017), confirma que a bioética é então prevista, e avalia estes riscos dos procedimentos e as suas

implicações envolvidas. Santos *et al.*, (2017), infere que isso decorre de não serem amplamente conhecidos os efeitos a longo prazo e, desta forma todas as variáveis das questões éticas devem ser vistas.

5 CONCLUSÃO

As interrelações entre as diversas áreas biomédicas, institucionais, políticas, econômicas e sociais consolidam as variáveis perspectivas tecnológicas de edição e das terapias gênicas existentes. Os fatores biotecnológicos e éticos envolvem-se aos aspectos mais técnicos, funcionais, morais e legais, estando envoltos aos questionamentos mais clássicos entre a ciência e sociedade. A edição gênica e os diagnósticos clínicos, consolidam-se quanto ferramentas de promoção a saúde e ao desenvolvimento humano, ao próprio progresso e do progresso tecnológico vigente.

O nexos ocorre entre as discussões de base e o desenvolvimento dos fatores. Estas condições, norteiam as pesquisas gênicas quando os mecanismos da Biotecnologia se adaptam as necessidades individuais, sociais e coletivas; quando a Bioética se caracteriza a condição humana no processo; quando a Biossegurança assegura a manutenção do ecossistema e quando o Diagnóstico clínico positiva a eficácia gênica. As possibilidades das técnicas de edição são imensuráveis o quanto são as incertezas, prevalece então o estudo, a precaução e a objetividade da vida.

REFERÊNCIAS

MYHRVOLD, C.; FREIJE, C. A.; GOOTENBERG, J. S.; ABUDAYYEH, O. O.; METSKY, H.C.; DURBIN, A. F.; KELLNER, M. J.; TAN, A. L.; PAUL, L. M.; PARHAM, L. A.; GARCIA, K.F.; BARNES, K. G.; CHACK, B.; MONDINI, A.; NOGUEIRA, M. L.; ISERN, S.; MICHAEL, S. F.; LORENZANA, I.; YOZWIAK, N. L.; MACLNNIS, B. L.; BOSCH, I.; GEHRKE, L.; ZHANG, F.; SABETI, P. C.; **Field-deployable viral diagnostics using CRISPR-Cas13**. *Science* 360, 444–448 (2018). Disponível em: <<https://www.science.org/doi/10.1126/science.aas8836>>. Acesso em: 26 fev. 2023.

CAETANO, G. C.G.; MATOS, H. O. S.; SIMÃO, P. C. R.; DUARTE, R. V.; BARRETO, S. A.; HENRIQUES, I.S. **TÉCNICA CRISPR-CAS9 E SUA UTILIZAÇÃO NA ÁREA LABORATORIAL**. *Brazilian Journal of Surgery and Clinical Research*. fev/2019. Disponível em:

<https://www.mastereditora.com.br/periodico/20190103_214255.pdfhttp://www.scielo.br/pdf/eins/v15n3/pt_1679-4508-eins-15-03-0369.pdf>. Acesso em: 28 set. 2022.

AREND, M. C.; PEREIRA, J. O.; MARKOSKI, M. M.; O **Sistema CRISPR/Cas9 e a Possibilidade de Edição Genômica para a Cardiologia**. Sociedade Brasileira de Cardiologia. 2017. Disponível em: <<http://www.arquivosonline.com.br/2017/10801/pdf/10801012.pdf>>. Acesso em: 28 set. 2022.

DANTAS, H. L. L.; COSTA, C. R. B.; COSTA, L. M. C.; LUCIO, I. M. L.; COMASSETO, I.; **COMO ELABORAR UMA REVISÃO INTEGRATIVA: SISTEMATIZAÇÃO DO MÉTODO CIENTÍFICO**. Revista Recien. 2021. Disponível em: <<https://recien.com.br/index.php/Recien/article/view/575>>. Acesso em: 18 mar. 2023.

PAIVA, M. R.; PARENTE, J. R. F.; QUEIROZ, A. H. B.; **METODOLOGIAS ATIVAS DE ENSINO-APRENDIZAGEM: REVISÃO INTEGRATIVA**. SANARE, Sobral - V.15 n.02, p.145-153, Jun./Dez. - 2016. Disponível em:<<https://sanare.emnuvens.com.br/sanare/article/view/1049>>. Acesso em: 18 mar. 2023.

GONÇALVES, G. A.R.; PAIVA, R. M.A; **Terapia gênica: avanços, desafios e perspectivas**. Revendo Ciências Básicas, 1 Hospital Israelita Albert Einstein, São Paulo, SP, Brasil, 2017. Disponível em:<<https://www.scielo.br/j/eins/a/cPw3g6fGY8srqk5hs83dDKR/?lang=pt>>. Acesso em: 02 abr. 2023.

FURTADO, R. N.; **Edição genética: riscos e benefícios da modificação do DNA humano**. Revista Bioética, Volume 27 no.2 Brasília Abril/Junho. 2019. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/bioet/a/jFptVvKR7RJHWXwmsKpZFrh/?format=pdf>>. Acesso em: 02 abr. 2023.

SANTOS, S. L. F.; ALVES, H. H. S.; PRADO, R. M. S; BARROS, K.N. T; **CRISPR: uma nova era na biologia molecular**. Revista Biotecnologia & Ciência v.5, n.2, p.40-48, 2017. Disponível em:<<https://www.revista.ueg.br/index.php/biociencia/article/view/5756>>. Acesso em: 23 abr. 2023.

GUIMARÃES, M.; **Uma ferramenta para editar om DNA**. Pesquisa FAPESP 240, 2016. Disponível em <<https://revistapesquisa.fapesp.br/uma-ferramenta-para-editar-o-dna/>> Acesso em: 14 mai. 2023.

REIS & OLIVEIRA, 2019, B. T.; Crispr-Cas9, Biossegurança e Bioética: Uma Análise Jusfilosófica-Ambiental da Engenharia Genética **E BIOÉTICA: UMA ANÁLISE JUSFILOSÓFICA-AMBIENTAL DA ENGENHARIA GENÉTICA**. Veredas do Direito, Belo Horizonte, v.16 n.34 p.123-152 Janeiro/Abril de 2019. Disponível em: < <http://revista.domhelder.edu.br/index.php/veredas/article/view/1490>> Acesso em: 14 mai. 2023.

RODRIGUES, Luan Crist. **DIREITO À INFORMAÇÃO EM FACE DOS RISCOS DA BIOTECNOLOGIA CRISPR/CAS9 GENE DRIVE AO PATRIMÔNIO GENÉTICO NO SISTEMA JURÍDICO BRASILEIRO**. Dissertação (mestrado em direito) - Universidade La Saie, Canoas, 2018. 158 f.

SIQUEIRA, J. P. Z.; ALMEIDA, M. T. G.; **Biologia Molecular como ferramenta de detecção fúngica no sangue: auxílio diagnóstico e redução de gastos**. Archives of Health Sciences - AHS, jul-dez, 2018. Disponível em: < <https://docs.bvsalud.org/biblioref/2019/12/1046416/artigo9.pdf>>. Acesso em: 02 abr. 2023.

PUIG, H.; LEE, R. A.; NAJJAR, D.; TAN, X.; SOENKSEN, L. R.; ANGENENT-MARI, N. M.; DONGHIA, N. M.; WECKMAN, N. E.; ORY, A.; NG, C.F.; NGUYEN, P. Q.; MAO, A. S.; FERRANTE, T. C.; LANSBERRY, G.; SALLUM, H.; NOEMI, J.; COLLINS, J. J.; **Minimally instrumented SHERLOCK (miSHERLOCK) for CRISPR-based point-of-care diagnosis of SARS-CoV-2 and emerging variants**. Science Advances 2021; 7. Disponível em: < <https://www.science.org/doi/10.1126/sciadv.abh2944>> Acesso em: 14 mai. 2023.