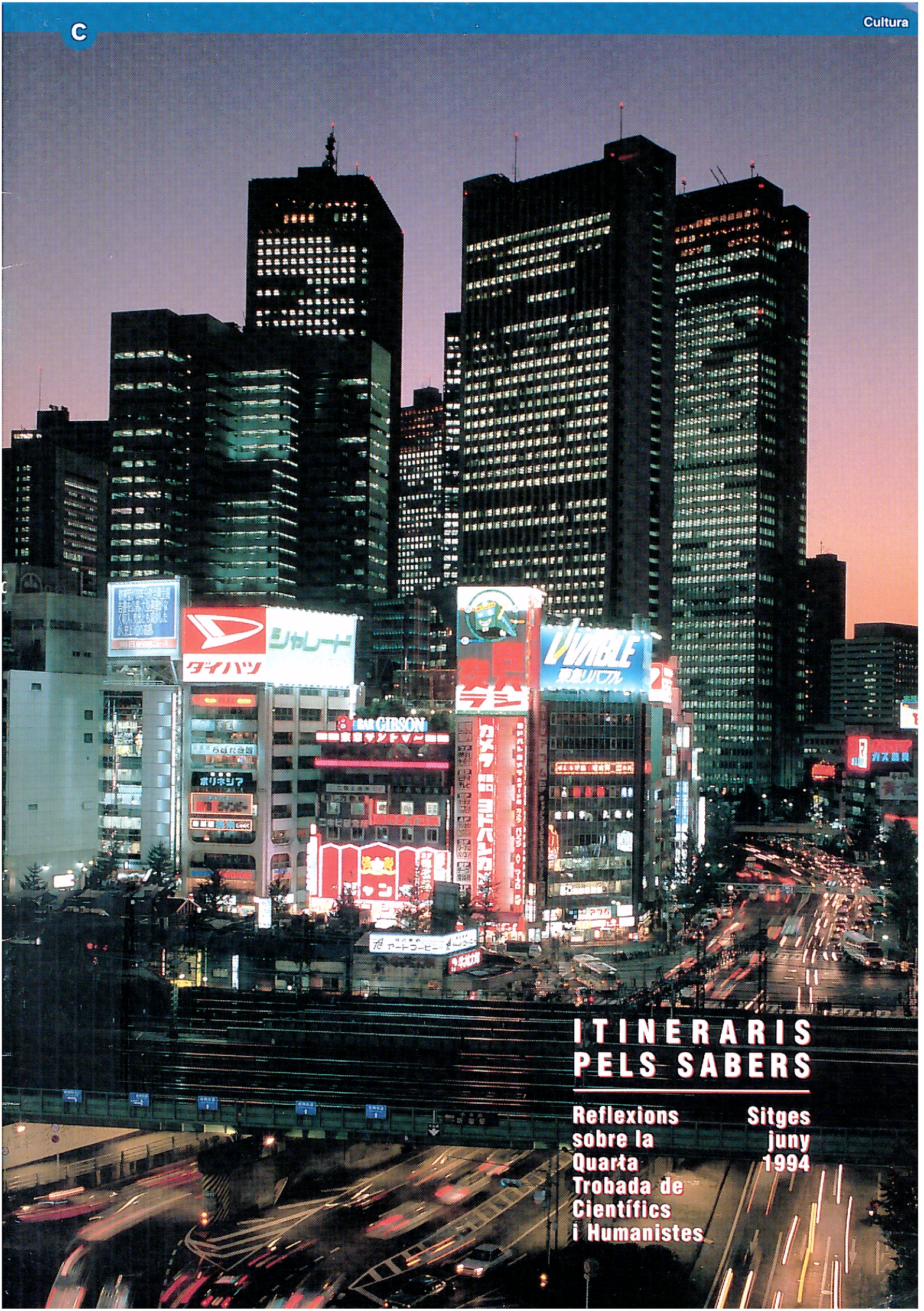


ITINERARIS PELS SABERS

Reflexions sobre la Quarta Trobada de Científics i Humanistes

Sitges
juny
1994

De la biologia molecular a la biotecnologia

Pere Puigdomènech
Departament de Genètica Molecular
CID-CSIC

L'ADN

Pocs descobriments d'aquest segle han aclarit una via per entendre qüestions essencials del nostre coneixement del món com el que va representar la publicació per part de Watson i Crick d'una estructura del l'ADN en doble hèlix. L'ADN havia estat proposat pocs anys abans com la base química dels gens (un concepte que durant un bon temps va ser considerat sospitós per alguns). Partint de les dades que hi havia sobre la seva composició química i sobre les imatges que la difusió dels raigs X produïen sobre fibres d' ADN, van poder proposar una estructura que, sobretot, donava la base per entendre com es podia mantenir i transmetre la informació continguda en la seva seqüència. Des d'aleshores, la fecunditat i la realitat d'aquestes suposicions han estat confirmades. Avui entenem l'estructura de l'ADN fins al seu nivell més íntim, el nivell atòmic, sabem com la informació està emmagatzemada en la seva seqüència de nucleòtids i com es converteix en activitats cel·lulars. Podem interpretar aquests fenòmens en termes d'interaccions químiques fent que la biologia s'integri sense problemes en la nostra visió fisicoquímica del món.

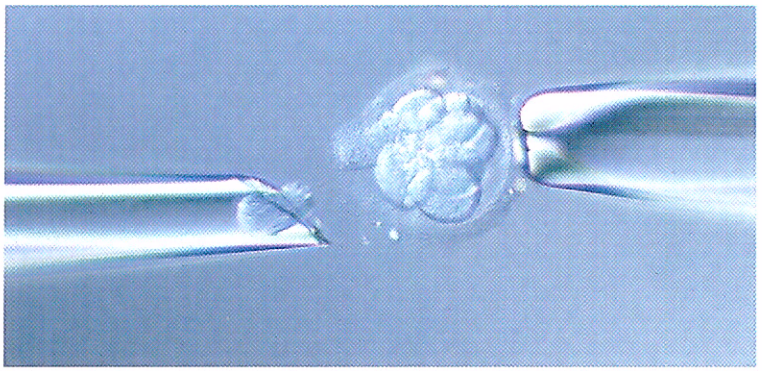
En l'actualitat sabem que podem aplicar a l'ADN les lleis més bàsiques de la física i la química. Per exemple, una de les propietats de l'ADN és la seva capacitat d'estructurar-se en tres dimensions, o com diem més precisament, la seva topologia. Com sabem, l'ADN és una molècula llarga (que realment es mesura en centímetres malgrat estar empaquetat en el nucli cel·lular que mesurem en mil·lèsimes de mil·límetre) i ha estat recentment demostrat que se li apliquen les lleis de la torsió igualment com a qualsevol cos allargat. Aquest fet no és únicament una curiositat, sinó que és conegut que l'estat de torsió o curvatura de l'ADN és important per a la seva funció. Coneixem també a nivell atòmic com certes proteïnes actuen sobre l'estat de torsió de l'ADN i també se sap que són importants per al control de l'activitat dels gens. Aquesta és una manifestació clara del fet que l'ADN està sotmès a les lleis essencials de la mecànica clàssica, en un cas, i de la mecànica quàntica, en l'altre. La unitat de la ciència es revela de forma absoluta quan arribem al nivell molecular de la biologia.

Els gens

La importància de l'ADN rau en el fet que és el suport material dels gens. Des d'un punt de vista químic, aquests no són altra cosa que segments d'ADN. En el llenguatge de quatre lletres (A, T, G i C) dels seus nucleòtids components s'hi troba la informació que necessita la cèl·lula per al seu funcionament. El nombre de gens que conté una cèl·lula varia segons les espècies, però va des dels cinc o sis d'alguns virus (que necessiten del concurs de gens de l'hoste per funcionar) fins als probablement entre 50.000 i 100.000 gens dels organismes superiors, com les plantes, els animals i, entre ells, els éssers humans. A aquest conjunt de gens l'anomenem el **genoma**. Correspon conceptualment, per tant, al conjunt de l'ADN que conté una espècie. Hi ha una diferència que cal tenir en compte, i és que una gran part de l'ADN dels organismes superiors (fins al 95% en alguns casos) no codifica per gens, sinó que té una funció no gaire ben coneguda, potser estructural o potser cap ni una, com alguns han proposat. Aquest ADN es compon sovint de seqüències repetides moltes vegades en el genoma.

Avui sabem ja la seqüència de centenars de gens d'una mateixa espècie i de milers del conjunt d'espècies biològiques. De l'home, ja en coneixem almenys trossos de la seqüència de més de 10.000 gens. En sabem també molts detalls del funcionament. Totes les cèl·lules d'un mateix individu contenen

Extensió cromosòmica que correspon a una nena (46, XX).
Fotografia: A.V. Servei de Medicina de la Reproducció. Institut Dexeus



Manipulació d'embrions. Fotografia: A. V. Servei de Medicina de la Reproducció. Institut Dexeus.

el mateix ADN, però en cada cèl·lula només s'estan expressant un nombre determinat de gens i a un nivell definit. El coneixement de les subtileses del control de l'expressió dels gens és una de les tasques actuals dels biòlegs moleculars. Sabem que els gens es transcriuen en ARN donant l'anomenat ARN missatger (ARNm) i que aquest es tradueix en proteïnes seguint el codi genètic. D'aquesta manera, la informació genètica va dirigida sempre en un mateix sentit: des de l'ADN que emmagatzema la informació cap a les proteïnes que són les molècules actives per excel·lència de la cèl·lula. Aquesta afirmació és el que es coneix com el primer dogma de la biologia molecular (que com tot dogma té les seves excepcions). També sabem –gràcies, en particular, al treball iniciat per Jacob i Monod–, que l'expressió dels gens està regulada per seqüències que es troben en general molt a la vora dels gens, sovint més amunt del seu inici de transcripció, formant el que s'anomena el **promotor** dels gens. Una qüestió essencial de l'actual biologia és com els factors reguladors de la cèl·lula identifiquen els elements del promotor i posen en marxa o aturen els gens.

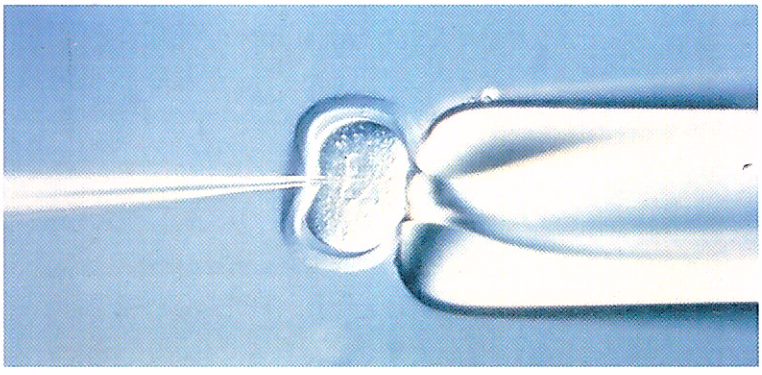
El genoma

Però una altra de les qüestions essencials de l'actual biologia molecular és el coneixement del conjunt dels gens que constitueixen el genoma d'una espècie. Hi ha arreu del món un seguit de programes que plantegen en un primer lloc el mapatge del genoma, és a dir, el coneixement de com els gens estan col·locats els uns respecte als altres i a quina distància. Una segona etapa, ja empresa en alguns casos, és la d'establir la seqüència completa de diversos genomes. Ja ha estat completada la seqüenciació del genoma d'orgànuls com el cloroplast o la mitocòndria. Està pràcticament completada la seqüenciació del genoma d'un bacteri (*Escherichia coli*), ha estat publicada la seqüenciació total de dos cromosomes de llevat i hi ha projectes avançats en espècies com *Caenorhabditis elegans* (un cuc del qual sabem amb molt detall el destí individual de la majoria de les cèl·lules que el componen), de *Drosophila melanogaster* (l'animal del qual sabem millor la funció dels gens), d'arròs (un projecte essencialment japonès), d'*Arabidopsis thaliana* (la planta amb menor contingut d'ADN conegut), del ratolí i, evidentment, de l'home. Aquests projectes ens portaran inevitablement al fet que d'aquí a cinc o deu anys tinguem en els nostres laboratoris fragments d'aquests genomes aïllats, identificats i amplificats, i en els nostres ordinadors la seqüència de tots els gens d'una espècie. La tasca d'interpretar-ne el significat és una altra qüestió que serà probablement el treball d'almenys una generació.

El fet és que amb aquestes dades podrem detectar les variacions que es produeixen en el genoma dels individus. Perquè si bé el nombre de gens és probablement el mateix en tots els individus d'una mateixa espècie, la seqüència dels gens no és idèntica, sinó **polimòrfica**. Això vol dir que els gens que contenen els diferents individus són col·leccions úniques de gens amb petites variacions entre ells. Quan un embrió es forma després de la fecundació d'un òvul per part d'un espermatozoide, en la nova cèl·lula es troben plegats pel primer cop un conjunt de gens que mai no havien conviscut en una cèl·lula. Això dóna la base a l'especificitat única dels individus. Aquests adquireixen d'aquesta manera el bagatge genètic que els acompanyarà tota la seva vida. En aquest retrobament únic de gens hi podem trobar potser aquell trauma del naixement que els psicoanalistes buscaven en etapes cada cop més primeres de la formació de l'individu.

El coneixement d'aquestes col·leccions de polimòrfismes donarà una eina extraordinària a la tecnologia mèdica per al coneixement dels elements que determinen les bases genètiques de la fisiologia dels individus. En aquells casos en què se'n conegui alguna característica (una malaltia, per exemple) que va unida a un polimorfisme genètic determinat, aquestes dades seran sens dubte importants com a diagnòstic. En alguns casos l'anàlisi genètica podrà permetre la predicció de la propensió a certes malalties, com les cardiovasculars o les metabòliques, com la diabetis. Evidentment són qüestions importants per a l'individu a l'hora de planificar la seva vida. La qüestió de qui podrà tenir accés a aquesta informació (asseguradores, possibles contractants o l'Estat, per exemple) cal plantejar-se-la des d'aquest moment. La necessitat de discutir àmpliament aquestes qüestions rau en diversos aspectes. D'una banda, quan tractem de caràcters que no depenen d'un gen únic, la predicció no és exacta sinó que té un component estadístic que pot ser vàlid, però que té unes limitacions. D'altra banda, quan parlem de caràcters que impliquen una malaltia tothom entén els avantatges d'aquesta anàlisi, però cal que tin-

Injecció d'un gen en el nucli d'un oòcit de ratolí. Foto: doctor Y. Heyman (INRA).



guem en compte que qualsevol caràcter que pugui ser descrit correctament pot acabar sent objecte d'anàlisi. Quan es poden presentar més problemes és quan es parla de caràcters de comportament. Ja es parla de la base genètica de l'homosexualitat, de la timidesa o de l'agressivitat. Quan es tracta d'aquestes qüestions que són delicades, cal tenir en compte que els caràcters del comportament tenen una base fisiològica més o menys complexa però evident. En l'atracció sexual d'un individu per un altre, en el cervell es produeixen fenòmens en què intervenen neurotransmissors, contactes cel·lulars, etc., i no hi ha raó perquè certes combinacions de gens no donin una propensió cap a un cert tipus de comportament. Això no implica, ni de bon tros, que l'ambient no hi intervingui, però possiblement en certs casos el factor genètic pot ser molt important. La delicadesa d'aquestes qüestions fa imprescindible que l'anàlisi genètica de caràcters de comportament es faci amb un rigor exquisit, però quan això sigui així tampoc no s'han de menysprear *a priori* resultats que ens parlen de les nostres tendències més íntimes. La ignorància mai no ha donat lloc a res de positiu.

La transgènia

Però avui no únicament podem analitzar fins al seu detall més íntim els genomes dels organismes vivents, també els podem modificar. En l'actualitat tenim tècniques que ens permeten introduir en pràcticament qualsevol espècie vivent gens, és a dir, fragments d'ADN de qualsevol procedència –bacteriana, animal, vegetal o fins i tot artificial–, perquè avui la síntesi de fragments d'ADN es fa de manera automàtica amb gran eficiència, almenys per a fragments curts. Quan introduïm gens en un organisme determinat diem que l'organisme l'hem transformat o que és transgènic. Els gens que introduïm els podem manipular prèviament en el tub d'assaig per tal que en controlem el funcionament de la manera que considerem apropiada.

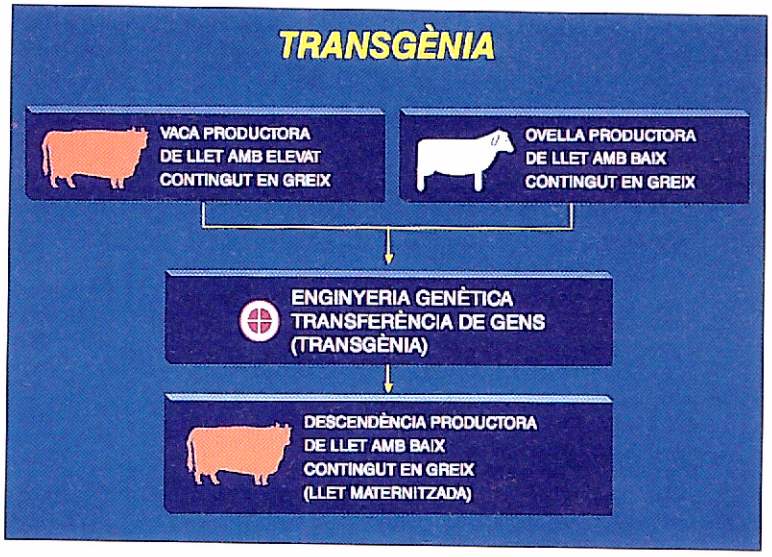
Actualment sabem introduir gens exògens en bacteris o llevats. Això es fa de manera rutinària en els processos de manipulació dels gens per poder aïllar-los i amplificar-los; és el que anomenen la **clonació** de gens. Però també podem introduir gens en aquests organismes unicel·lulars per expressar aquests gens, és a dir, per obtenir el producte d'aquests gens. L'expressió de gens en cultius bacterians, de llevats o de cèl·lules d'organismes superiors, és un procediment emprat arreu del món per a la producció de substàncies d'interès farmacològic com ara hormones, vacunes, etc.

Però també sabem transformar organismes més complexos; de fet no es veuen en aquest moment límits en les possibilitats d'obtenir qualsevol tipus d'organismes transgènics, ja siguin animals, plantes, fongs, etc. Evidentment, en cada cas les metodologies que es fan servir són diferents i depenen de les característiques específiques de cada espècie.

Les plantes transgèniques

Per exemple, en les **plantes** les metodologies estan basades en les propietats de regeneració a partir de cultius cel·lulars o fragments de teixits que els vegetals tenen a diferència dels animals. D'aquesta manera han estat desenvolupades tècniques diverses de transformació de plantes que s'apliquen en diferents espècies segons les seves característiques. Una d'aquestes tècniques fa servir les propietats d'espècies bacterianes patògenes de plantes (essencialment *Agrobacterium*) que poden transmetre un ADN propi a les plantes que infecten. En certes espècies vegetals la tècnica utilitzada consisteix a tractar les cèl·lules de manera que eliminin la seva paret cel·lular; aleshores s'incuben les cèl·lules en presència de l'ADN amb què se les vol transformar i es donen petites descàrregues elèctriques que creen porus en les cèl·lules. L'ADN entra aleshores en les cèl·lules i les transforma. Una altra alternativa és l'ús del "canó de gens". Aquest és un dispositiu que permet el llançament a gran velocitat sobre el material biològic que es vol transformar de petites partícules d'un metall inert (or o tungstè en general) que es recobreixen de l'ADN apropiat. Quan les partícules travessen les cèl·lules, deixen anar l'ADN i moltes de les cèl·lules que sobreviuen queden transformades. En aquestes metodologies, les plantes es regeneren gràcies a tractaments hormonals adequats.

La primera planta transgènica (un tabac) es va aconseguir el 1984. Des d'aleshores s'ha treballat a estendre vegetals d'interès econòmic o científic i a aplicar-les per aconseguir plantes d'interès agronòmic. Avui es poden transformar el tomàquet, la colza, el blat de moro, el blat, el pi, el pollancre, les roses i un llarg etcètera. Caràcters que han aconseguit introduir-se en plantes i que ja han estat duts a l'experimentació en camp són en general plantes resistents a virus o a insectes, tolerants a herbicides, els fruits de les quals maduren més lentament, que no produeixen pol·len per aconseguir híbrids, i les flors de les quals tenen una coloració diferent, entre altres exemples. Els primers productes vegetals transgènics, llavors diverses i tomàquets de maduració retardada, han sortit al mercat el 1994. Projectes de modificació de la composició de les plantes en olis, en sucres o en pro-



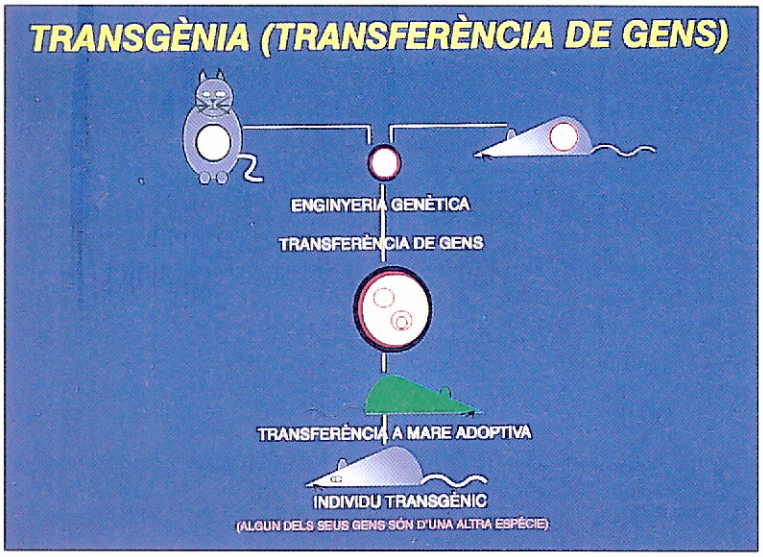
Avui dia sabem modificar els genomes dels organismes vivents a base d'introduir-hi altres gens que fins i tot poden haver estat manipulats prèviament. De fet no es veuen en aquests moments límits en les possibilitats d'obtenir qualsevol tipus d'organismes transgènics.

teïnes ja han demostrat la seva factibilitat i comencen a aplicar-se. En els laboratoris ja s'ha demostrat l'ús de les plantes com a productores de productes farmacèutics, d'enzims importants com a additius per a la digestió o la fermentació, o bé que poden produir plàstics. Poca gent dubta encara que les plantes transgèniques poden revolucionar camps concrets de la producció agrícola.

Els animals transgènics

Per obtenir animals transgènics cal utilitzar una metodologia molt diferent que la que s'usa en plantes, perquè no és possible regenerar un animal a partir d'una cèl·lula que no sigui l'embrió. Per aquesta raó la tècnica més utilitzada és la microinjecció d'òvuls fecundats amb una petita quantitat d'ADN mitjançant una micropipeta. D'aquesta manera s'han aconseguit ratolins, rates, xais, porcs, vaques o conills transgènics. Mitjançant aquesta tècnica o l'ús de retrovirus també han estat produïts insectes, aus o peixos transgènics. Els animals transgènics també estan sent emprats per tenir animals amb propietats incrementades de creixement o d'aprofitament dels nutrients; també s'estan utilitzant per a la producció de certes substàncies, per exemple en la llet de vaca o per incrementar les propietats de la llana. Un aspecte important dels transgènics és el seu ús com a model per a malalties humanes o la humanització d'òrgans animals de cara al seu ús en transfusions o transplantaments.

Una limitació de les tècniques de la transgènia que és vàlida tant per als animals com per a les plantes és que no és possible per ara predir el lloc del genoma on el gen introduït en un organisme es col·locarà. Això fa que, d'una banda, hi hagi el risc que es produeixi una mutació no desitjada i, d'altra banda, que el nivell d'expressió del gen sigui impredictible. En plantes això no és problema, perquè n'hi ha prou a seleccionar entre centenars o milers d'individus, si cal, aquella que es comporta com s'havia predit. En animals és més complex, però no impossible. En qualsevol cas aquesta és una limitació que fa impossible, ara per ara, l'aplicació d'aquestes tècniques en humans. Si s'arriba a poder enviar un gen a una localització precisa del genoma i per tant a predir exactament els efectes que tindrà la transformació, una cosa que ja es pot fer en un llevat o en cèl·lules de mamífers en cultiu, en aquest cas la situació canviaria. Ara per ara, manipular cèl·lules germinals d'humans és una pràctica absolutament prohibida en tots els països del món.



Unes eines molt poderoses

La recerca dels darrers quaranta anys ens ha donat una informació extremament precisa i detallada del funcionament íntim dels éssers vius. Les perspectives dels propers anys són que acabarem l'anàlisi dels gens que determinen allò que fa que un organisme sigui d'una espècie concreta i que fa que un individu sigui distint de qualsevol altre. Integrar aquest coneixement, per entendre el funcionament dels organismes serà feina de molts anys. Aquest coneixement el podrem aplicar a nosaltres mateixos i probablement servirà per a la diagnosi i el tractament de malalties i per conèixer-nos en el nostre nivell més íntim. Quin ús farem d'aquesta informació és una qüestió essencial i urgent a discutir. Hem d'assegurar-nos que aquesta informació serveixi per augmentar la qualitat de vida i la llibertat dels individus, encara que aquests són termes que és possible que hàgim de revisar profundament.

D'altra banda, haurem d'acostumar-nos a conviure amb animals i plantes transgènics. En aquest moment l'espècie humana està actuant decisivament sobre el medi ambient i sobre les espècies. És un element que, de forma creixent, actua sobre la selecció de les espècies, malauradament en molts casos provocant-ne l'extinció. A les nostres mans tenim ara unes eines que permeten d'actuar en l'evolució de les espècies modificant-ne els caràcters d'una manera dirigida. En aquest món que s'ha tornat tan petit per a la nostra espècie, cal trobar el sistema d'integrar aquestes enormes potencialitats de manera que els equilibris a què el planeta arriba inexorablement siguin aquells més favorables per a la supervivència del conjunt d'individus de la nostra espècie i del conjunt de les espècies del planeta en les millors condicions possibles.

Bibliografia

CRICK, F. *Qué loco propósito*. Barcelona: Tusquets, 1989.
PRENTIS, S. *Biotecnología*. Barcelona: Salvat, 1993.
SINGER, M.; BERG, P. *Genes y genomas*. Omega; 1993.
WATSON, J.D. *La doble hélice*. Barcelona, 1987.