

CAPÍTOL 2: IDEES PRINCIPALS

- *La biotecnologia és l'aplicació industrial d'organismes vius o de parts d'organismes, i/o la utilització de tècniques biològiques per desenvolupar nous productes, incloent productes alimentaris, farmacològics i industrials.*
- *L'enginyeria genètica és el conjunt de tècniques i processos que, de manera sistemàtica, empren i imiten processos naturals per fer combinacions noves i inèdites de material hereditari. Són les tècniques que permeten modificar els gens i la composició genètica dels éssers vius.*
- *Els OGM són organismes als quals s'ha modificat el contingut genètic mitjançant tècniques d'enginyeria genètica, ja sigui introduint un gen forà (o més d'un) o bé suprimint o modificant la funcionalitat d'un gen propi. És possible modificar genèticament qualsevol ésser viu.*
- *Els OGM reben diverses crítiques, centrades sobretot en els hipotètics perills que poden suposar per a la salut humana, les possibles interaccions negatives amb el medi ambient i determinades qüestions socials, com les patents, els monopolis i els destinataris dels guanys econòmics.*
- *Paradoxalment, els OGM troben les principals aplicacions en el camp de l'alimentació, l'estudi de malalties i el desenvolupament i la producció de nous fàrmacs, i en el manteniment i la millora de la qualitat del medi ambient.*
- *Cal que la biotecnologia s'apliqui, es controli i es reguli de manera exemplar per poder satisfer les necessitats globals de la població.*

CAPÍTOL 3

LES BASES DE LES MODIFICACIONS GENÈTIQUES: DNA, PROTEÏNES I CÈL·LULES

En el capítol anterior hem fet un primer tast del món dels OGM, de les finalitats i de la utilització que se'n fa actualment, així com també de les principals crítiques que reben i de les perspectives de futur que poden representar, les quals, paradoxalment, estan centrades en els mateixos temes. També s'han definit algunes de les paraules més utilitzades en aquest camp, com biotecnologia, enginyeria genètica, DNA recombinant i organisme genèticament modificat (o OGM). S'ha fet esment de tres punts de cabdal importància perquè la implantació dels OGM, en aquells camps en què es consideri adequada, sigui un èxit no només econòmic sinó, sobretot i molt especialment, social, quant a la millora de la qualitat de vida global de les persones. Així doncs és necessari una aplicació, una regulació i un control estrictes per part de tots els implicats. En aquest capítol, parlarem de les bases de les modificacions genètiques dels OGM i de com es generen aquests organismes. És a dir, parlarem del DNA i de les tècniques bàsiques d'enginyeria genètica

El DNA du codificades les instruccions per fabricar proteïnes, les quals confereixen les característiques biològiques als éssers vius.

Com estan organitzats els éssers vius?

Tot ésser viu conté el seu material hereditari, des dels bacteris més senzills fins als humans, passant pels protozous, els llevats, els fongs, les plantes i tota la resta d'animals. Tal com ja hem es-

mentat, el material hereditari determina les característiques biològiques dels organismes, incloent, per exemple, la mida, la quantitat i la composició nutritiva dels fruits, la resistència a les condicions climatològiques, a les plagues i infeccions, la producció de proteïnes bactericides i, en resum, de totes les molècules i estructures que conté i que el fan funcionar com a ésser viu, amb les característiques pròpies de la seva espècie i varietat. És a dir, en determina l'organització.

Què són les cèl·lules?

Tots els éssers vius estan formats per cèl·lules. Les cèl·lules són els elements vius més simples o, dit d'una altra manera, són les estructures biològiques més simples que tenen vida pròpia. La vida es defineix, biològicament parlant, com la facultat que capacita els organismes per realitzar les funcions vitals; és a dir, per alimentar-se, relacionar-se i reproduir-se de manera independent. Aquesta definició exclou els virus com a éssers vius, atès que necessiten indefugiblement infectar una cèl·lula per reproduir-se. No poden fer-ho de manera independent perquè no disposen de la maquinària biològica adequada. Encara que també tenen material hereditari, necessiten emprar la maquinària de les cèl·lules que infecten per poder-se reproduir. De totes formes, també parlarem dels virus, ja que són una eina imprescindible en moltes tècniques d'enginyeria genètica.

Hi ha organismes formats per una sola cèl·lula i organismes formats per un grup més o menys nombrós de cèl·lules. Els primers s'anomenen unicel·lulars, com per exemple els bacteris, els protozous i els llevats. Els darrers s'anomenen pluricel·lulars, i en són exemple tots els animals i plantes. Els éssers humans, per exemple, estem formats per uns 10 bilions de cèl·lules. Totes les cèl·lules contenen el seu material hereditari, tant si pertanyen a organismes pluricel·lulars com unicel·lulars. Per tant, la primera cosa que podem afirmar és que el material hereditari es troba a l'interior de totes les cèl·lules.

Quins tipus bàsics de cèl·lules hi ha?

Hi ha dos tipus generals de cèl·lules, que es diferencien pel lloc on tenen emmagatzemat el material hereditari. Unes són els bacteris, que no el tenen dins de cap estructura especial sinó junt amb tots els altres components cel·lulars, condensat en una zona determinada. Són les anomenades cèl·lules procariotes. En la resta de cèl·lules, el material hereditari es troba dins una estructura cel·lular especial anomenada nucli, que es troba envoltat per una membrana que compartimenta la cèl·lula, l'aïlla i la protegeix. Són les anomenades cèl·lules eucariotes, com les que formen els protozous, els fongs, els llevats, les plantes i els animals. Aquesta diferència entre unes cèl·lules i unes altres implica directament una clara diferència en la manipulació del material genètic que en podem fer: serà més fàcil en bacteris que en la resta d'éssers vius, ja que el tenen menys protegit, i per tant és més accessible.

Les cèl·lules eucariotes són molt més complexes i, en general, més grosses que les procariotes. Si bé el criteri de la complexitat és inapel·lable, pel que fa a la mida hi ha algunes excepcions. Per exemple, hi ha alguns bacteris, com el *Thiomargarita namibiensis*, el nom del qual significa 'perla del sofre de Namíbia', que mesuren uns 0,3 mm de diàmetre. Aquests bacteris són unes 100 vegades més grans que la majoria d'altres bacteris, i fins i tot són més grossos que els llevats, uns organismes unicel·lulars eucariòtics típics que mesuren uns

0,005 mm de diàmetre. Aquests bacteris gegantins foren descoberts el 1999 en sediments de la plataforma continental de Namíbia, on s'utilitzen compostos sulfurats com a font d'energia. Però no cal anar tan lluny per trobar bacteris gegants. Molt més a prop de casa, en el delta de l'Ebre, concretament en els tapisos microbians de la península dels Alfacs, hi viu un altre bacteri anomenat *Titanospirillum velox*, que és molt més gran que qualsevol altre bacteri del seu grup. Aquest bacteri, el nom del qual significa 'espiril gegant i veloç' per la forma en espiral, la mida descomunal i la rapidesa amb què es mou, presenta dos plomalls de flagells, uns pèls llargs i mòbils que permeten que es desplaci a gran velocitat. Malgrat que ara per ara no s'utilitza cap d'aquests bacteris en enginyeria genètica, el cert és que tenen alguns gens específics que podrien ser nos de gran utilitat.

Com estan organitzades les cèl·lules eucariotes?

Tornant a les cèl·lules eucariotes, tant les cèl·lules animals com les vegetals tenen, a part del nucli, molts altres orgànuls i estructures cel·lulars, cadascun amb una funció determinada (figura 3-1). Per començar, les cèl·lules estan envoltades per una membrana cel·lular, que les delimita i protegeix. Aquesta membrana cel·lular, formada bàsicament per lípids, evita que les substàncies internes escapin a l'exterior, al mateix temps que impedeix l'entrada de qualsevol substància externa.

És a dir, manté la integritat cel·lular. Tanmateix, les cèl·lules no són unitats autàrquiques, no es troben aïllades del seu entorn, sinó que s'hi relacionen i interaccionen, agafant les substàncies que necessiten i deslliurant-se dels productes de rebuig. Per realitzar aquestes funcions, les cèl·lules disposen d'una bateria de proteïnes que travessen la membrana cel·lular, les quals s'encarreguen d'afavorir el transport de determinades substàncies. A més a més, les cèl·lules també disposen d'una col·lecció de proteïnes específiques que, a mode de sensors, capten i transmeten tota la informació rellevant de l'ambient on es troben per tal de respondre-hi de manera escaient. Tal com veurem a continuació en aquest mateix capítol, per generar OGM és necessari introduir segments de DNA a l'interior de les cèl·lules, fet que implica que bona part de les metodologies estiguin encaminades a superar aquesta barrera biològica, que de forma natural ho impedeix.

Tot l'interior de la cèl·lula és ple d'una substància col·loïdal, el citoplasma, dins la qual hi ha submergida tota una sèrie d'orgànuls amb funcions molt específiques. Una substància col·loïdal és una mescla heterogènia de partícules submicroscòpiques, en aquest cas molècules orgàniques, com proteïnes, greixos i sucres, que es troben disperses en una altra substància, com pot ser l'aigua, per on es difonen lentament. Per exemple, per aconseguir l'energia necessària per viure, les cèl·lules eucariotes disposen d'uns orgànuls anome-

nats mitocondris, que es troben en el citoplasma. Tal com veurem més endavant, els mitocondris contenen petites molècules de DNA.

Una altra de les estructures cel·lulars de les quals parlarem més endavant són els ribosomes, la funció dels quals és descodificar les instruccions contingudes en el material genètic per fabricar proteïnes. A més a més, les cèl·lules eucariotes també disposen de reticle endoplasmàtic, una estructura membranosa que les compartimenta per tal d'incrementar la superfície on es realitzen les reaccions bioquímiques; vacúols, unes vesícules membranoses que emmagatzemen substàncies de reserva; lisosomes, unes altres vesícules membranoses encarregades de degradar i digerir l'aliment ingerit; i citoesquelets, un conjunt de fibres que organitzen la distribució d'òrgans i donen forma a la cèl·lula.

A més a més de tots aquests òrgans i estructures esmentats, les cèl·lules vegetals en tenen d'altres que els són propis. Envoltant la membrana cel·lular hi ha una paret cel·lular, gruixuda, rígida i resistent, que dona una duresa i protecció a aquestes cèl·lules, la qual cosa justifica la major consistència dels vegetals. D'altra banda, les cèl·lules vegetals disposen d'uns òrgans especials, els cloroplasts, que gràcies a determinats pigments generalment de color verd, com la clorofil·la, transformen l'energia lluminosa del Sol en energia bioquímica; per això les fulles de les plantes són de color verd. Com veurem més endavant, els cloroplasts també contenen petites molècules de DNA.

Com estan organitzats els bacteris?

Els bacteris, en canvi, són molt més senzills. Estan envoltats per una membrana i una paret cel·lular externa, i l'única estructura organitzada que tenen a l'interior són els ribosomes, per sintetitzar proteïnes. Alguns bacteris tenen també algunes molècules semblants a les que permeten que els cloroplasts de les plantes captin l'energia lluminosa i la transformin en energia bioquímica, i fins i tot n'hi ha que tenen molècules adients per transformar l'energia química de l'entorn en energia bioquímica apta per a construir molècules orgàniques, com l'esmentat *Thiomargarita namibiensis*, que és capaç d'utilitzar l'energia química dels compostos sulfurats.

Aquesta clara diferència de la complexitat estructural implica també una clara diferència de la complexitat funcional, que es tradueix en el fet que sigui molt més fàcil manipular i cultivar bacteris que no pas cèl·lules eucariotes. I dins les cèl·lules eucariotes, els llevats són relativament més simples que les cèl·lules animals i vegetals, per la qual cosa també resulta més fàcil manipular-los i cultivar-los en el laboratori. Finalment, també cal tenir present que durant la generació dels OGM és relativament més senzill manipular les cèl·lules vegetals que no pas les animals, atès que la complexitat estructural i funcional dels animals és superior a la de les plantes. Tal com veurem, en biotecnologia s'utilitzen tant bacteris com llevats, cèl·lules vegetals i cèl·lules ani-

mals, en funció de les característiques pròpies de cada cèl·lula i de la finalitat que es persegueixi.

Què són els virus?

Respecte als virus, aquests són encara més senzills, ja que són acel·lulars -no estan formats per cèl·lules. L'estruc-

tura és formada tan sols per material hereditari embolcallat per una coberta proteica. Com a molt, alguns virus es "camuflen" amb un tros de membrana de la darrera cèl·lula que han infectat, cosa que els permet infectar noves cèl·lules amb més facilitat.

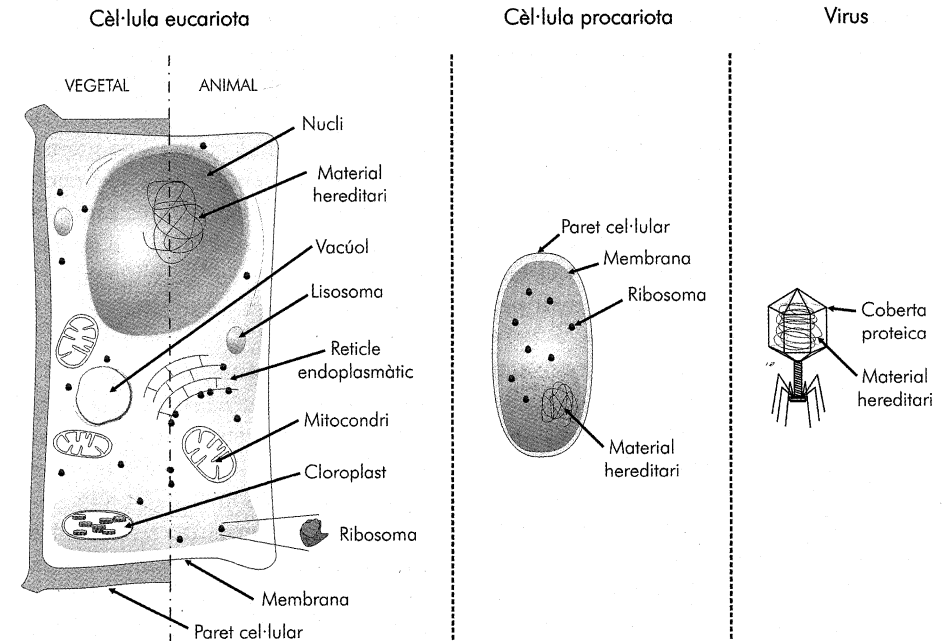


Figura 3-1 Estructura i morfologia de les cèl·lules eucariotes animals i vegetals, de les cèl·lules procariotes i dels virus. (Il·lustració: Jordi Armengol)

Quina és la base molecular del material genètic?

La base molecular del material genètic és una llarga molècula anomenada DNA (o ADN), acrònim d'àcid desoxiribonucleic. Les molècules de DNA estan formades per la unió lineal de quatre unitats més senzilles, les peces elementals que formen els gens, repetides moltes vegades. Aquestes peces elementals, que reben el nom de nucleòtids, es designen mitjançant quatre lletres, C, G, T i A, les quals provenen de la inicial del nom de la molècula que els dona l'especificitat (citosina, guanina, timina i adenina, respectivament). Els nucleòtids estan disposats de manera lineal, un darrere l'altre, formant una llarga cadena, el DNA pròpiament dit. El DNA contingut en una cèl·lula humana, per exemple, està format per 6.400 milions de nucleòtids, i pesa unes 5 bilionèsimes de gram. La meitat d'aquest DNA prové de la nostra mare, uns 3.200 milions de nucleòtids que eren continguts a l'òocit, i l'altra meitat, del nostre pare, els 3.200 milions de nucleòtids restants, que eren a l'espermatozoide que el va fecundar.

Cada molècula de DNA completa està formada per dues cadenes de nucleòtids encarades i unides que constitueixen una estructura en forma d'escala de cargol, una doble hèlix enrotllada cap a la dreta (figura 3-2). Els nucleòtids de les dues cadenes s'aparellen específicament entre ells en virtut de determinades atraccions fisicoquímiques, fet que manté les dues cadenes

unides: guanina sempre s'encara a citosina (G-C), i timina a adenina (T-A). La informació genètica continguda i codificada en el DNA depèn de l'ordre dels nucleòtids dins la cadena. De la feina consistent a analitzar aquest ordre, és a dir, d'esbrinar la seva seqüència, se'n diu seqüenciar. Per exemple, la seqüència CACAGCTCTGTCCTGCTCTG correspon als 20 primers nucleòtids del gen de la miosina cardíaca humana, que contribueix als batecs del cor, mentre que la seqüència AGCCCTCCAGGACAGGCTGC correspon als 20 primers nucleòtids del gen de la insulina, una hormona que regula el nivell de sucre a la sang. Actualment, ja s'ha seqüenciat el DNA complet de moltes espècies d'éssers vius, inclosa l'espècie humana. Són els anomenats projectes genoma, dels quals parlarem tot seguit.

Què són els cromosomes?

En determinades ocasions, com per exemple quan una cèl·lula s'ha de reproduir, el DNA s'empaqueta formant unes estructures anomenades cromosomes. Els cromosomes de les cèl·lules eucariotes són lineals i tenen forma de "bastonet". Els cromosomes bacterians, en canvi, són circulars, com una anella (figura 3-2). D'altra banda, les cèl·lules eucariotes tenen el DNA repartit en diversos cromosomes, en nombre variable depenent de l'espècie, mentre que els bacteris en tenen un de sol. Els humans, per exemple, tenim 46 cromosomes iguals 2 a 2 (excepte els cromosomes sexuals en els homes), 23

dels quals provenen de la nostra mare i els altres 23 del nostre pare. En aquest cas sí que hi ha unes quantes excepcions, atès que recentment s'han descobert bacteris el cromosoma dels quals és també lineal, i d'altres que tenen el DNA repartit en més d'un cromosoma.

Els cromosomes estan bastits per unes proteïnes específiques que en mantenen la forma i que contribueixen que funcionin. Aquestes proteïnes són diferents en les cèl·lules eucariotes i en els bacteris, però la funció general que realitzen és la mateixa.

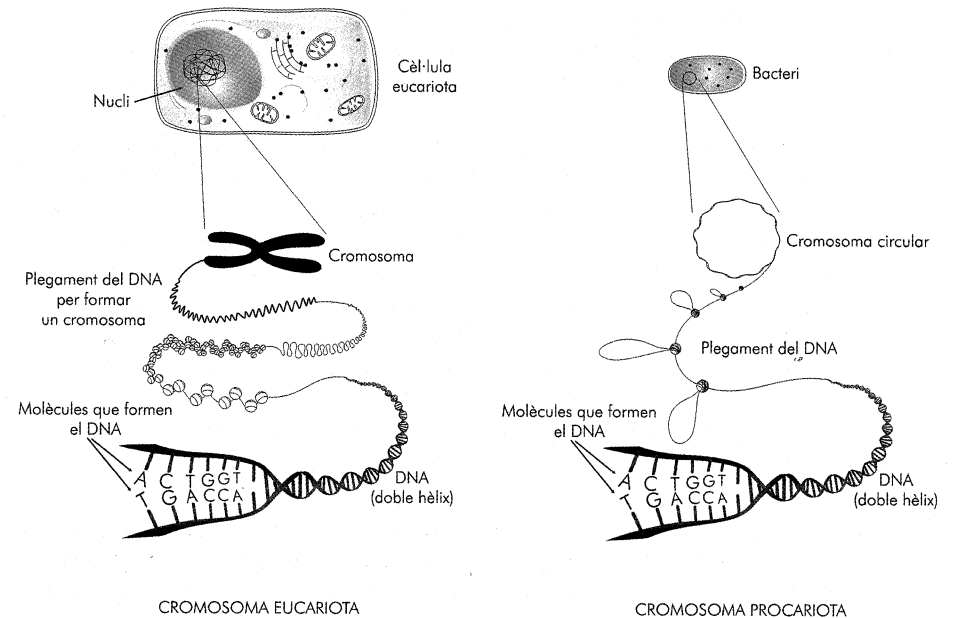


Figura 3-2. Estructura del DNA i dels cromosomes de les cèl·lules eucariotes (protzoous, llevats, plantes i animals) i de les procariotes (bacteris). (Il·lustració: Jordi Armengol)

És igual el DNA de tots els organismes?

Independentment del tipus de cromosoma, tant si és lineal com circular, o si les proteïnes que els basteixen són d'un tipus o d'un altre, com si les cèl·lules d'un organisme determinat en tenen un o més d'un, el cert és que el DNA de tots els éssers vius és exactament igual quant a estructura, composició i funcionalitat. Aquesta és una dada molt important per a les tècniques d'enginyeria genètica, i permet entendre l'enorme potencialitat de la biotecnologia, ja que implica que el DNA com a tal pugui ser experimentalment bescanviable entre espècies tan allunyades com una persona i un bacteri, o una vaca i una planta d'arròs, sense que els organismes receptors (els OGM) notin la diferència. I això vol dir, ni més ni menys, que les característiques biològiques són perfectament transferibles entre organismes, per molt diferents que aquests siguin. Aquesta és la base conceptual dels OGM.

Què són els gens?

Cada molècula de DNA conté moltes unitats funcionals anomenades gens. Els gens són les unitats bàsiques de l'herència, els elements que duen la informació per determinar les característiques biològiques dels organismes. Això inclou no només el seu aspecte extern, sinó també totes les funcions fisiològiques, i àdhuc el procés de desenvolupament, des de la fecundació dels gàmetes fins a l'edat adulta i l'envelliment. Des

del punt de vista molecular, un gen és un tros de DNA que realitza una funció concreta, és a dir, que conté la informació necessària per conferir una característica biològica determinada. Per tant, per poder manipular el contingut genètic dels organismes, per poder dissenyar modificacions gèniques, una de les primeres necessitats és conèixer els gens, quins són i què fan. Hem arribat, per tant, al punt on hem de parlar dels projectes genoma.

Què és el genoma i com s'estudia?

El genoma d'un organisme és el conjunt de tots els seus gens. Hi ha moltes maneres de conèixer els gens. Fins mitjan dècada de 1990, el més habitual per analitzar una característica d'interès era identificar i seqüenciar el gen concret que la determinava, incloent la seva funció específica. Era una tasca llarga, dura i pesada, però no exempta d'un extraordinari interès.

Actualment, però, amb l'automatització dels processos de seqüenciació, és possible seqüenciar el genoma complet d'un organisme, tasca que s'agrupa sota el nom genèric de Projecte Genoma. L'objectiu dels projectes genoma és obtenir la descripció completa dels gens que conformen un organisme, és a dir, seqüenciar-ne el genoma, tot el DNA. Actualment ja es disposa de la seqüència del genoma de molts organismes, inclòs el nostre, la seqüenciació del qual, dins l'anomenat Projecte Genoma Humà, d'envergadura internacional, ha estat una

important fita en la història de la biologia (figura 3-3). La realització i la consecució dels projectes genoma suposa una inversió increïblement gran de temps i diners, tant de recursos públics com privats, i la implicació d'un gran nombre d'investigadors, tècnics i gestors. És per això que es té molta cura a l'hora de seleccionar els organismes als quals és convenient analitzar el genoma. Els que s'utilitzen són els següents:

- Organismes àmpliament utilitzats com a model experimental, com per exemple determinats bacteris, els cucs intestinals (*Caenorhabditis elegans*), la mosca de la fruita (*Drosophila melanogaster*), els ratolins, fongs, llevats i l'arabidopsis, una planta.

- Altres organismes d'interès en ciència bàsica, com per exemple els primats no humans i els bacteris extremòfils, que viuen en condicions de temperatura, salinitat i pressió extremes, i que contenen gens que els permeten aprofitar fonts d'energia molt diverses.

- Organismes patògens, com molts bacteris, protozous i virus, amb una clara incidència sobre la salut humana i, per tant, importants des del punt de vista biomèdic i farmacològic per desenvolupar noves eines de prevenció i tractament.

- Organismes d'interès agropecuari, com pot ser el cas de moltes plantes de conreu i animals de granja, com l'arròs, el blat de moro, la soja, la colza, els porcs, les vaques, les ovelles i els pollastres, entre molts altres.

- I la nostra espècie, per conèixer, entre moltes altres coses, l'origen genètic de les patologies que ens afecten.

El desenvolupament i la consecució dels projectes genoma està permetent obtenir un catàleg de gens que, un cop se n'ha esbrinat la funció (una de les tasques més monumentals de l'era postgenòmica que tot just ara s'inicia) poden ser utilitzats en el disseny de nous OGM per a qualsevol de les finalitats esmentades en el capítol anterior. De tota manera, cal puntualitzar que per identificar gens i estudiar llur funció no cal seqüenciar tot el genoma d'un organisme, atès que es disposa d'un bon grapat de tècniques que permeten fer-ho de manera específica i dirigida.

Tot el DNA està contingut en els cromosomes?

A part del DNA contingut en els cromosomes nuclears de les cèl·lules eucariotes i en els cromosomes bacterians, també existeixen altres molècules de DNA que porten petites quantitats d'informació genètica, quantitats minúscules comparades amb el genoma total de l'organisme, però no per això poc importants. Per exemple, dins els mitocondris, els orgànuls cel·lulars encarregats de subministrar energia a les cèl·lules, hi ha petites molècules de DNA que contenen una quinzena de gens implicats en la funcionalitat específica d'aquests orgànuls. Són els cromosomes mitocondrials.

- Protecció, consistència i impermeabilitat: el col·lagen i la queratina són dues proteïnes estructurals associades a la pell, als pèls i al teixit conjuntiu, que uneix els diversos òrgans i teixits d'un organisme.

- Transport de substàncies: l'hemoglobina és un pigment respiratori encarregat de transportar oxigen per la sang, des dels pulmons fins als diversos teixits.

- Mecanismes de defensa: les immunoglobulines (els anticossos) són unes proteïnes del sistema immunitari dels vertebrats encarregades de la defensa de l'organisme contra elements potencialment patògens, com els bacteris. D'altra banda, la toxina Bt, molt emprada en plantes transgèniques, és una proteïna del bacteri *Bacillus thuringiensis* capaç de matar insectes.

- Moviment: l'actina i la miosina són dues proteïnes molt abundants en el teixit muscular, responsables del moviment de la musculatura (i per tant una de les principals fonts de proteïna d'origen animal per als humans).

- Empaquetament del material hereditari: les histones són les proteïnes encarregades de compactar el DNA en els cromosomes eucariotes.

- Transmissió i recepció de senyals: els receptors cel·lulars són proteïnes encarregades de la comunicació entre cèl·lules i entre aquestes i el medi exterior. La insulina és una proteïna que regula la quantitat de glucosa en sang interaccionant amb receptors específics.

- Afavorir reaccions enzimàtiques: els enzims, el grup més gran de proteïnes,

tenen la funció de catalitzar (fer possible) les reaccions bioquímiques de les cèl·lules, com per exemple sintetitzar vitamines o modificar greixos entre moltíssimes altres.

- Control de l'expressió dels gens: els factors de transcripció són proteïnes encarregades de controlar el funcionament dels gens.

Aquesta llista no és en absolut gratuïta. En el decurs d'aquest llibre parlarem de moltes d'aquestes funcions en el context dels OGM.

Les proteïnes estan formades per la unió lineal d'uns elements bàsics, els aminoàcids. En les proteïnes hi ha 20 aminoàcids diferents. L'estructura i la funció de cada proteïna les determina l'ordre concret dels aminoàcids que la formen, els quals s'uneixen linealment formant llargues cadenes.

Quin és el diccionari que permet traduir els gens a proteïnes?

Perquè la informació es pugui traduir i passar del gen a la proteïna existeix una relació estricta i molt ben determinada entre la seqüència de nucleòtids del DNA i la seqüència d'aminoàcids de la proteïna corresponent. Aquesta relació s'anomena codi genètic (figura 3-4). El codi genètic és universal, el mateix per a tots els éssers vius i per als virus. Això té una importància cabdal en la construcció d'OGM, i justifica que un gen de vaca pugui funcionar perfectament bé en una planta d'arròs, o un gen humà en un bacteri.

En aquest codi, cada tres nucleòtids (un triplet) es corresponen amb un aminoàcid específic. Per tant, hi ha una correspondència directa entre la seqüència de nucleòtids en el gen i l'ordre d'aminoàcids en la proteïna. També hi ha un triplet que determina on comença la informació per fer la proteïna, i tres triplets que en determinen l'acabament.

		Segona lletra					
		T	C	A	G		
Primera lletra	T	TTT Fenilalanina TTC TTA Leucina TTG	TCT Serina TCC TCA TCG	TAT Tirosina TAC TAA STOP final de traducció TAG	TGT Cisteïna TGC TGA STOP final de traducció TGG Triptòfan	T	
	C	CTT Leucina CTC CTA CTG	CCT Prolina CCC CCA CCG	CAT Histidina CAC CAA Glutamina CAG	CGT Arginina CGC CGA CGG	T	
	A	ATT Isoleucina ATC ATA ATG Metionina inici de traducció	ACT Treonina ACC ACA ACG	AAT Asparagina AAC AAA Lisina AAG	AGT Serina AGC AGA Arginina AGG	T	
	G	GTT Valina GTC GTA GTG	GCT Alanina GCC GCA GCG	GAT Àcid Aspàrtic GAC GAA Àcid Glutàmic GAG	GGT Glicina GGC GGA GGG	T	
						Tercera lletra	
						T	
						C	
						A	
						G	

Figura 3-4. Taula del codi genètic. Observeu la correspondència directa entre cada triplet de nucleòtids i un aminoàcid concret. Observeu també que hi ha triplets que determinen l'inici i la fi de la traducció. Hi ha aminoàcids que són específics per més d'un triplet diferent, però en cap cas un mateix triplet pot especificar més d'un aminoàcid. És a dir, en la traducció no hi ha ambigüitats. (Il·lustració: Jordi Armengol)

Com es realitza la transferència d'informació del DNA a les proteïnes?

La transferència d'informació d'un triplet de nucleòtids a un aminoàcid no és senzilla (figura 3-5). De forma molt resumida, direm que el primer pas consisteix a copiar la informació del gen

a una molècula intermediària anomenada RNA, la qual també és formada per nucleòtids. En aquest cas, els quatre nucleòtids es designen mitjançant les lletres C, G, U i A, les quals provenen de la inicial del nom de la molècula que els dona l'especificitat (citosina, gua-

nina, uracil i adenina, respectivament). Tal com el lector pot observar, tres són comuns entre el DNA i l'RNA, i un és diferent. Aquest flux d'informació del DNA a l'RNA contribueix a preservar intacte el DNA. És com fotocopiar o digitalitzar un llibre molt valuós abans de llegir-lo per preservar l'original.

Després, l'RNA viatja fins als ribosomes, els quals "llegeixen" la seqüència dels triplets i encaixen ordenadament els aminoàcids corresponents per formar la proteïna, una autèntica traducció automatitzada entre idiomes moleculars diferents. El procés de còpia del DNA a l'RNA s'anomena transcripció, i la descodificació dels triplets de l'RNA en els aminoàcids de la proteïna s'anomena traducció.

Totes les proteïnes són funcionals?

Abans de continuar avançant, ens cal fer dos petits incisos. Hi ha proteïnes que, un cop sintetitzades, ja són per si mateixes plenament funcionals. D'altres, però, han de madurar per adquirir la funcionalitat. La maduració de les proteïnes és molt diversa en funció de cada proteïna, i inclou des de trencaments específics en la seva seqüència, com és el cas de la insulina, fins a la incorporació de sucres o altres molècules, com grups fosfats (molècules que contenen àtoms de fòsfor). I aquí sí que hi ha diferències entre organismes: no tots poden fer totes les modificacions, per la qual cosa cal utilitzar molt d'enginy a l'hora de dissenyar els OGM. No debades el conjunt de tècniques i pro-

cessos utilitzats rep el nom d'enginyeria genètica. A la segona part del llibre en veurem algun exemple. De moment, diguem que els bacteris no poden modificar les proteïnes.

Representa cap problema que hi hagi DNA no codificant dins els gens?

El segon incís fa referència al DNA que no porta informació per fabricar proteïnes, esmentat en un punt anterior. Tal com ja hem dit, els organismes contenen zones del DNA que no codifiquen per a proteïnes. Aquestes seqüències no tan sols es troben fora dels gens, sinó que, en eucariotes, també es poden trobar dins els gens, la qual cosa podria induir a errors a l'hora de fer proteïnes. Per tal d'evitar aquests errors, els organismes eucariotes presenten una maquinària molecular específica, un conjunt d'enzims i d'altres proteïnes, que detecten aquestes zones i les eliminen durant la transcripció (el procés de còpia de DNA a RNA). En canvi, els gens bacterians no contenen aquestes seqüències no codificants en el seu interior, i per tant aquests organismes no tenen la maquinària necessària per eliminar-les. Sempre que es vulgui fer funcionar un gen eucariota en un bacteri, caldrà eliminar primer les zones no codificants que pugui contenir a l'interior, ja que el bacteri no serà capaç d'eliminar-les quan les transcriu. Encara que no les explicarem, hi ha maneres relativament senzilles de fer-ho en el laboratori, com per

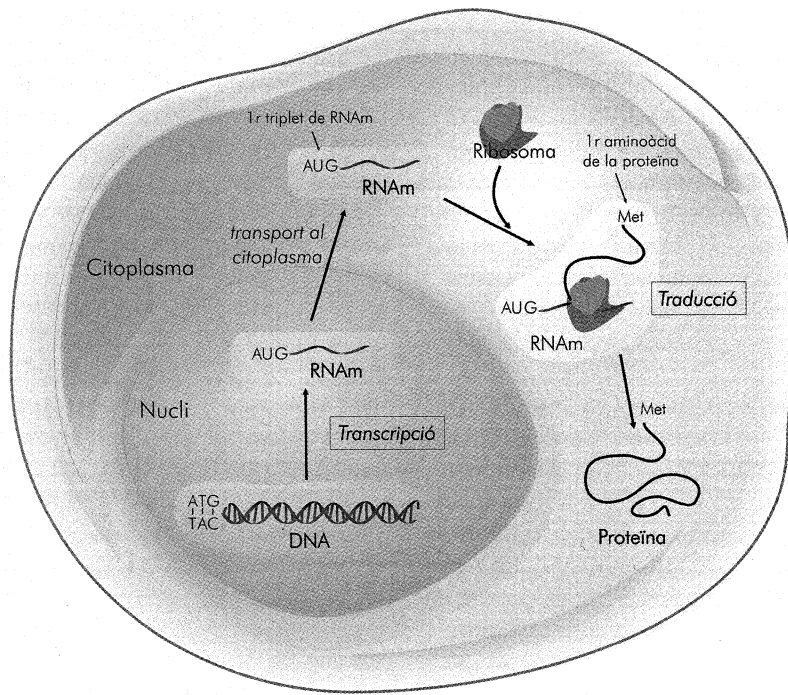


Figura 3-5. Transferència d'informació del DNA a l'RNA, i de l'RNA a les proteïnes: transcripció i traducció. Observeu que en les cèl·lules eucariotes, l'RNA surt del nucli ja que els ribosomes es troben en el citoplasma. Això no passa en els bacteris, atès que el seu DNA no està tancat dins un nucli, però el procés general és el mateix. (Il·lustració: Jordi Armengol)

exemple copiant l'RNA a DNA¹, per la qual cosa aquest fet no suposa cap problema pràctic, però cal tenir-lo en compte a l'hora de dissenyar bacteris genèticament modificats. Només direm que aquest procés de còpia inversa (recordem que és el DNA que es copia a RNA) no és pas un invent dels científics, sinó una simple imitació d'un procés natural propi de molts virus, que ho empren com a eina per infectar cèl·lules, colonitzar-ne el genoma i prendre el control d'alguns dels seus gens.

Una altra cosa ben diferent, però, és el DNA no codificant que es troba entre gens, no pas dins ells. Algunes d'aquestes seqüències són les encarregades de dirigir l'expressió dels gens.

Com es regula l'expressió dels gens?

Ara ja sabem què codifiquen els gens i de quina manera determinen les característiques biològiques a través de les proteïnes. Però encara ens manca una cosa més. Com ho saben els gens quan i on han de funcionar? La pregunta pot semblar trivial, però no ho és pas. Si tots els gens funcionessin simultàniament, la despesa energètica per a la cèl·lula seria insostenible. A més, si fos així, totes les cèl·lules tindrien totes les proteïnes, per la qual cosa totes serien funcionalment i morfològicament iguals. És a dir que, per exemple, en les plantes no podríem distingir entre les fulles, la

tija i les arrels, ni en els animals, entre els músculs i el cervell, o els ossos i la pell. Cada cèl·lula ha d'expressar un conjunt molt concret i ben definit de gens, aquells que li confereixen les característiques biològiques específiques que li permeten realitzar les funcions. En definitiva, cal que hi hagi un control molt precís sobre la funcionalitat dels gens, sobre el lloc i el moment en què han de funcionar.

D'aquest control se n'encarreguen dos tipus d'elements:

- Unes seqüències reguladores² que es troben en el mateix DNA, al costat dels gens, anomenades genèricament intensificadors i promotors.

- Unes proteïnes específiques anomenades factors de transcripció³ que s'uneixen als intensificadors i als promotors.

Les seqüències reguladores es troben generalment abans de l'inici del gen, i formen part del DNA no codificant. Són específiques de cada gen, i a elles s'uneixen els factors de transcripció. Si no existeixen els factors de transcripció adequats, el gen no s'expressa, no funciona. Fent una comparació simplificada, les seqüències reguladores actuarien d'interruptor, i els factors de transcripció serien el dit que el prem en el moment i el lloc adequats (figura 3-6).

Tanmateix, aquests factors de transcripció, com a proteïnes que són, estan codificats en altres gens, que al seu torn

tenen també seqüències reguladores a les quals s'uneixen altres factors de transcripció, que estan codificats en altres gens que també posseeixen seqüències regula-

dores, en una llarga cadena d'interaccions moleculars (figura 3-6). És a dir, que la regulació dels gens depèn d'unes xarxes extremadament complexes.

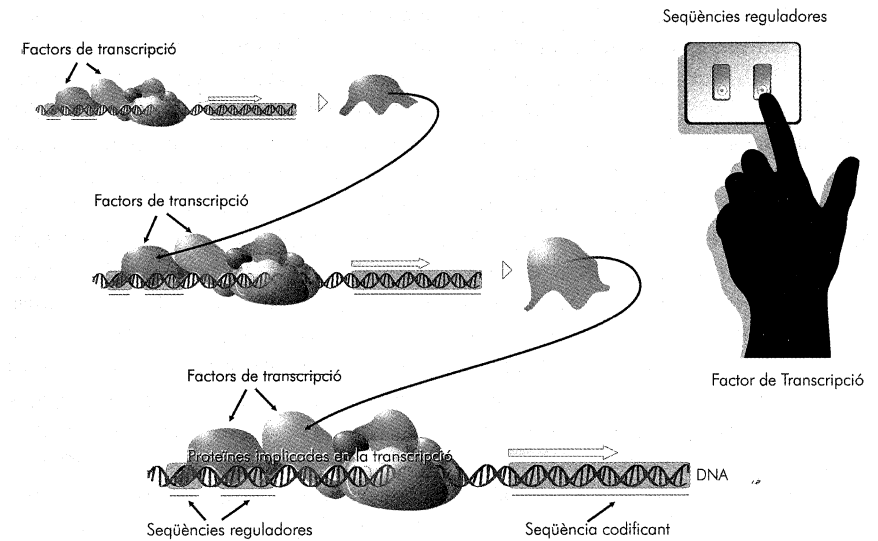


Figura 3-6. Mecanisme de regulació de l'expressió dels gens. (Il·lustració: Jordi Armengol)

² Les seqüències reguladores són segments del DNA que es troben generalment abans de l'inici dels gens. N'hi ha de dos tipus: els promotors, que són les zones on s'uneix la maquinària biomolecular encarregada de la transcripció —el procés de còpia de la informació del DNA a l'RNA—, uns enzims específics anomenats genèricament polimerases de l'RNA; i els intensificadors, la funció dels quals és indicar on i quan s'ha d'expressar el gen. El mecanisme d'actuació és conceptualment molt senzill: als intensificadors s'uneixen unes proteïnes específiques, anomenades factors de transcripció, les quals s'uneixen a la maquinària biomolecular encarregada de copiar la informació del DNA a l'RNA i li indiquen que ha arribat el moment d'actuar.

³ Els factors de transcripció són un tipus de proteïnes la funció de les quals és unir-se als intensificadors per indicar als gens quan i on s'han d'expressar. El tipus de factors de transcripció que hi ha presents en una cèl·lula en un moment donat determina els gens que aquesta cèl·lula expressa.

¹ Aquest procés de còpia inversa s'anomena retrotranscripció.

Com s'aconsegueix que els gens transferits a un OGM s'expressin en el lloc i en el moment correcte?

Dit d'aquesta manera, hom podria pensar que és molt difícil poder determinar experimentalment on i quan volem que s'expressi un gen transferit a un OGM, però no és pas així. Ans al contrari. De fet, que de forma natural la regulació es faci d'aquesta manera és un gran avantatge, perquè ens permet controlar de forma molt precisa i acurada l'expressió dels gens transferits. Per exemple, si volem que una cabra transgènica produeixi un factor de coagulació humana en la llet per al tractament de l'hemofília, només ens cal ajuntar (recombinar) el gen que conté la informació per fabricar el factor de coagulació humana amb una seqüència reguladora específica natural de glàndula mamària de cabra (aquella que fa que els gens s'expressin en glàndula mamària), com per exemple la que controla l'expressió de proteïnes làcties, la qual farà indefugiblement que el gen introduït s'expressi només en les cèl·lules d'aquest òrgan, sense cap altra intervenció per part nostra. Els factors de transcripció de la cabra, que ja hi són presents de manera natural, faran la resta, i ens asseguraran que el gen introduït no s'expressi enlloc més.

Això és especialment útil quan hom dissenya plantes transgèniques per al consum, ja sigui humana o animal. Imaginem el cas del blat de moro, del qual en consumim el gra. Si hi ha una eruga que es menja la tija de la planta i disposem

d'un gen que codifica una toxina que elimina les erugues però que és innòcua per als humans (i la tenim, es diu Bt i procedeix d'un bacteri anomenat *Bacillus thuringiensis*), podem recombinar (ajuntar) el gen que codifica la toxina amb una seqüència reguladora de la mateixa planta de blat de moro que faci que el gen en qüestió s'expressi només a la tija. D'aquesta manera, les erugues no barrinaran les tiges, i el gra es mantindrà lliure de la toxina, que malgrat sigui innòcua per als humans, si no ens la mengem, millor.

El resum de tot això és que podem posar el gen escaient en les cèl·lules de l'organisme més adequat, sigui quin sigui, sempre i quan li afegim al davant una seqüència reguladora específica de l'organisme que el rep, no pas de l'organisme que l'ha "cedit", atès que és ell que l'ha de fer funcionar i que conté, de forma natural, els factors de transcripció necessaris.

És molt fàcil que arribats a aquest punt més d'un lector faci un somriure mig sorneguer mentre pensa que una cosa és dir que s'agafa un gen, que es recombinava amb un altre tros de DNA, que es posa i es treu de no se sap massa ben bé on ni de quina manera, i que una cosa ben diferent és fer-ho de debò i que, a més a més, funcioni correctament. Utilitzarem la resta d'aquest capítol a explicar-ho de forma senzilla i molt resumida (si ho expliqués amb tots els ets i uts, molt probablement, a més d'un el somriure se li aniria esvaint progressivament).

Els biòlegs moleculars modifiquen el DNA imitant i reproduint processos naturals.

Pot canviar la informació continguda en el material genètic?

La seqüència de nucleòtids del DNA canvia tot sovint de manera natural; és a dir, muta. Les mutacions no són res més que errors en l'emmagatzematge de la informació genètica, i generen canvis hereditaris. És precisament sobre aquests canvis hereditaris que actua la selecció natural, la base de l'evolució dels organismes, la qual afavoreix la reproducció dels individus més ben adaptats a unes condicions ambientals concretes.

A vegades es tracta simplement de la substitució d'un nucleòtid per un altre, cosa que pot provocar el canvi d'un aminoàcid en la seqüència de la proteïna corresponent i, consegüentment, pot alterar-ne la funcionalitat. Aquest procés es pot reproduir al laboratori de forma dirigida, fet que permet alterar la funcionalitat d'una proteïna d'interès de forma predeterminada. És l'anomenada mutagènesi dirigida, que és molt útil en determinats casos. Per exemple, quan es van dissenyar els bacteris genèticament modificats productors d'insulina humana funcional, es van haver de mutar dos nucleòtids per tal que canviessin dos aminoàcids concrets. Això va permetre que millorés la difusió de la insulina cap al torrent sanguini des dels teixits subepidèrmics, on és introduïda mitjançant una injecció subcutània.

Tanmateix, hi ha mutacions que de forma natural provoquen la inserció o la pèrdua d'un nucleòtid en la cadena de DNA, i també es poden produir canvis molt més complexos, que sempre alteren la informació genètica. Per exemple, es pot despendre tot un segment de DNA d'una zona d'un cromosoma i que es produeixi una translocació a una altra lloc, ja sigui del mateix cromosoma o d'un altre, fet que pot acostar dues zones de DNA que originalment estaven allunyades. Conceptualment és el mateix que es fa per construir un OGM, recombinar un gen amb una seqüència reguladora que originalment no tenia a prop. Hi ha, però, una diferència substancial: en dissenyar un OGM, s'acostuma a recombinar un gen d'un organisme amb una seqüència reguladora procedent d'una espècie diferent, com per exemple el gen de la insulina humana amb una seqüència reguladora de bacteri, o un gen que codifica una toxina bacteriana amb una seqüència reguladora de blat de moro, mentre que de forma natural el DNA no viatja entre organismes d'espècies diferents per formar combinacions noves i inèdites.

Bé, de fet això no és ben bé així. Hi ha casos documentats de gens vírics que han acabat formant part del genoma de molts éssers vius, entre els quals també els humans. Fins i tot hi ha qui considera que aquest fenomen pot explicar alguns dels processos evolutius, però aquest és un altre tema. La idea general és que, llevat comptades excepcions en les quals hi ha virus implicats, de forma natural els gens no viatgen entre organismes.