

# EL GEN SINTÈTIC

per la redacció de "Nature"

28 (628/octubre 1981

ciència 10)

A finals del mes d'agost d'enguany, el semanari científic britànic "Nature" (volum 292, n.º 5825) publicava els resultats d'un treball d'enginyeria genètica que, iniciat un any i mig abans, havia donat com a resultat espectacular la síntesi total d'un gen humà; es tracta, ademés, del gen més llarg fabricat fins ara. La comunicació científica és signada per M. Michel D. Edge i vuit altres investigadors del departament farmacèutic del grup industrial Imperial Chemical Industry i de la Universitat de Leicester. Oferim aquí als lectors un resum d'aquest important treball de "bricolage genètic" a càrrec de la pròpia redacció de la revista "Nature".



Fa menys de dos anys, un intent de sintetitzar l'interferó humà hagués estat literalment impossible. I fa tot just dos anys que la seqüència de nucleòtids dels gens de l'interferó va ser determinada utilitzant la transcriptasa inversa per tal d'obtenir ADN a partir de molècules d'ARN missatger produïdes per cèl·lules que hom induïa a produir l'interferó.

Des de llavors, l'obtenció de còpies similars d'ADN a partir d'ARN missatger ha fet possible mostrar l'existència de tota una família de gens d'interferó en el genoma humà —bastants d'ells corresponen a l'interferó del leucòcit (la varietat alfa), d'altres corresponen al del fibroblast (anomenat beta) i finalment, el més difícil de trobar dels interferons immunitaris s'anomena lambda. Inevitablement, la seqüència d'aminoàcids de cada un d'ells no ha estat treballada directament, mitjançant anàlisis químiques, sinó que l'estructura de la proteïna ha estat deduïda bàsicament aplicant el codi genètic a les seqüències de nucleòtids del gen. Per això ha estat, per dir poca cosa, un triomf tècnic el fet que un grup format per l'ICI (Imperial Chemical Industries, UK) hagi aconseguit ara la síntesi total del gen de l'interferó humà (vegeu Edge i al., pàg. 756 de "Nature", 20.8.81).

Aquest gen és, de bon tros, el gen més llarg sintetitzat fins ara: pel cap baix 514 nucleòtids de llarg. Donat que ha estat

necessari enfilat a la vegada els nucleòtids de les dues cadenes complementàries d'ADN, això vol dir que han estat ajuntats més de 1.000 nucleòtids d'una manera predeterminada.

La química de la síntesi és més fàcilment explicada que portada a terme. El punt de sortida és un nucleòtid inicial lligat a una resina de poliacrilàmida. Els nucleòtids següents van essent afegits per parells, mitjançant un agent d'acoblament en piridina anhidra. Segons diuen els autors, el temps emprat per cada cicle d'aquests és d'una hora i mitja. Amb aquesta velocitat, la gent ambiciosa podria calcular que seria possible d'ajuntar 5.000 nucleòtids en un any, o un genoma sencer en..., bé, alguns segles. Càlculs com aquests demostren com mai modificacions de les tècniques de síntesi d'ADN, com les portades a terme pel grup de l'ICI, no seran prou ràpides per a ajuntar genomes sencers.

En realitat, com ha estat descrit abans, els curts fragments de 15 o més nucleòtids de llargada han hagut de ser fets separatament a fi d'obtenir un resultat de síntesi respectablement alt, i després aquests fragments d'escassa llargada de doble hèlice es reuneixen abans de ser acoblats tots junts per completar el gen. Que el gen resultant era complet ha estat demostrat per la seva incorporació en un plàsmid, la seva amplificació i les subsegüents anàlisis.

Edge i els seus col·legues no diuen si els seus plàsmids han estat capaços de dirigir la síntesi de proteïnes —i si ha estat així, quines eren—, però "alguna cosa" era produïda, de l'activitat biològica de la qual prometen un futur informe. Seria una gran sorpresa si el producte no fos l'interferó alfa.

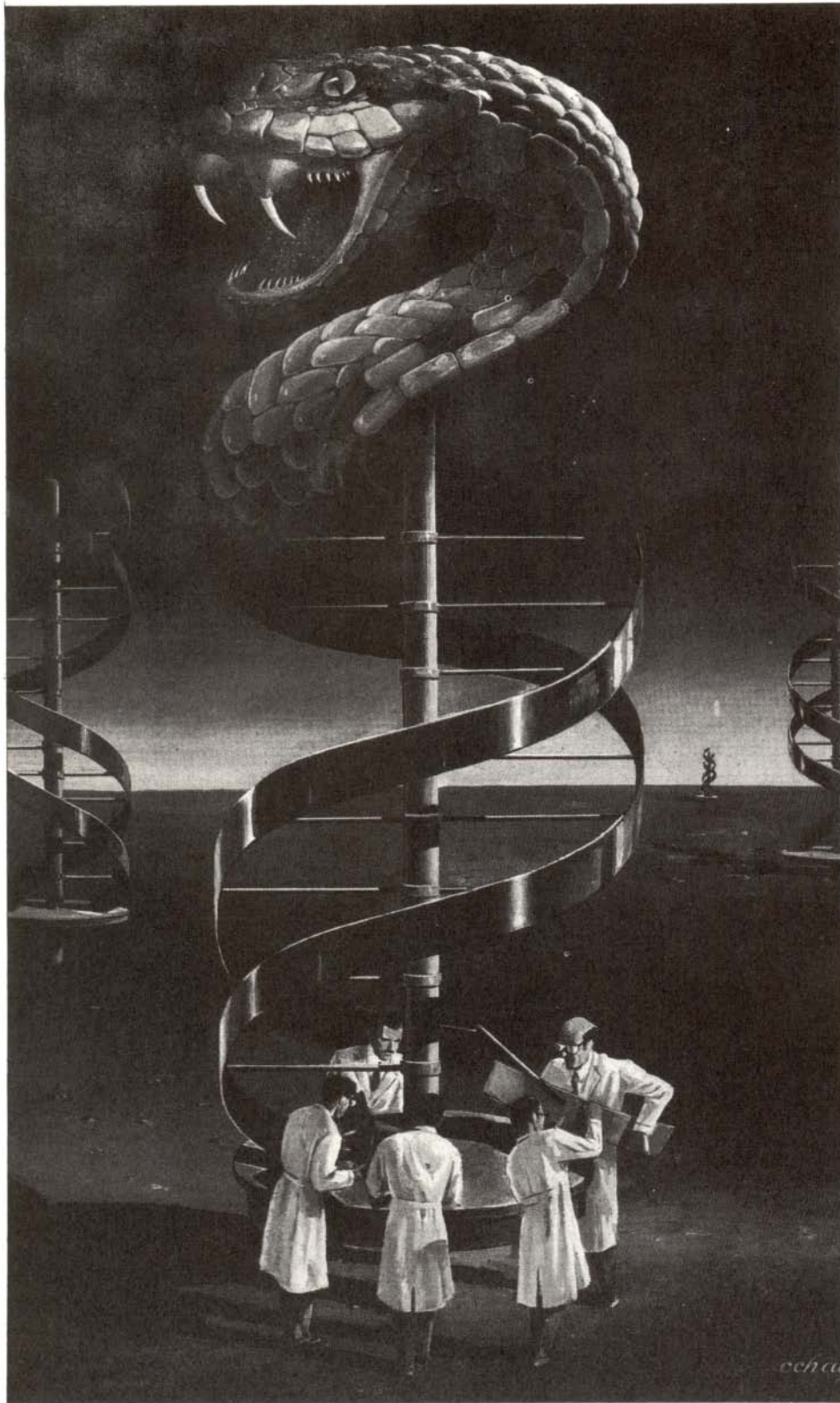
El gen ara sintetitzat no és tanmateix el gen que existeix de forma natural, sinó un d'anàleg, dissenyat així a fi de simplificar-ne la síntesi i també a fi d'evitar combinacions de nucleòtids veïns que podrien impedir l'expressió del gen en el medi no natural del plàsmid. Caldria fer una de les versions de l'interferó alfa i, amb sort, caldria fer-ho força més eficientment. Però seria una extraordinària bona fortuna si el gen ara sintetitzat esdevingués un gen de l'interferó superabundantment eficient. La importància d'aquest desenvolupament tècnic no és el gen per si mateix, sinó la demostració de la tècnica. És una mica com escalar l'Everest: una vegada conegut, és més fàcil pujar-hi la segona vegada.

Però actualment ja és possible comprar màquines que podran lligar automàticament nucleòtids en una seqüència predeterminada. De quina manera ajudarà la síntesi d'aquest gen artificial? Per una banda l'acoblament d'una certa quantitat de nucleòtids només és la meitat de la batalla. La purificació és un afer avorrit i sovint incert. La necessitat més impor-

# MÉS LLARG... I DE

# MOLT

octubre 1981/629 29



tant per a la construcció d'un gen llarg és una estratègia intel·ligent per decidir quins fragments del gen cal fabricar i en quin ordre muntar-los. L'ús de computadors per a marcar seqüències en el gen objectiu, que pot causar algun problema durant l'acoblament, també és obligatori. Això no vol dir que el treball tot just ara anunciat sigui un simple *tour de force* tècnic. En els darrers anys fragments de gens sintètics han estat usats de moltes maneres diferents —com a proves per a

trobar dins d'un genoma intacte un fragment de material genètic que conté una seqüència particular, per exemple. Aquells qui el seu treball és inserir gens estranys dintre d'un plàsmid d'ADN trobaran considerablement més segur resintetitzar els extrems dels gens contigus als llocs més propers i convenients per a aplicar els enzims de restricció, que no pas assegurar-se que els nucleòtids no s'han perdut quan les cues que es necessiten per a encaixar amb el plàsmid d'ADN són afegides químicament. Compondre fragments d'ADN que hom

espera que tinguin importants funcions, com els que actuen com a llocs de promoció o replicació, ha esdevingut també possible i valuós. Però per a un grup que té les seves arrels en una indústria farmacèutica, ha hagut de ser especialment satisfactori que ara sigui possible projectar sistemàticament la variació d'un gen per les variacions de l'estructura de la proteïna que en resulta. ¿Hi ha potser una engruna de nostàlgia en l'afirmació que "les anàlisis clàssiques en medicina d'estructura-activitat serien (ara) possibles amb grans pèptids"?

El panorama és estimulante. Hi ha una evidència estesa, derivada de l'experiència de la farmacologia tradicional, que els productes naturals poden ser normalment modificats per tal d'obtenir medicaments més eficaços. Els canvis efectuats sobre l'estructura dels antibiòtics naturals durant algunes dècades passades n'és un signe. Els interferons prometen esdevenir un malson per als farmacòlegs —ja que entre els seus efectes biològics, la inespecificitat sembla la seva característica comuna. Per això és natural que en els mesos passats hi hagi hagut un gran interès a hibriditzar molècules d'interferó —un extrem amb l'altre i l'altre amb un altre, etc. Ara seria possible començar a fer modificacions més subtils, no solament aquelles que depenen del punt on cau el lloc de restricció dintre del gen. El resultat hauria d'ajudar a aclarir les funcions de les diferents parts de la molècula de l'interferó. Ja que ara per ara el millorament de l'interferó produït naturalment es limita a ser una feina desencoratjadora. Mentre els assaigs biològics fiables sobre l'efectivitat de les molècules d'interferó esmentades siguin escassos i distants entre ells, i mentre l'eficiència dels gens d'interferó inclosos dintre de plàsmids en la producció de proteïnes sigui tan baixa com ara, seria esperançador per a molts que les incerteses que abunden dintre de l'enginyeria genètica de l'interferó amb finalitat mèdica fossin aclarides ben aviat.

( Redacció de "Nature" )