

Gens saltadors

El treball pioner de Barbara McClintock

Premi Nobel de Medicina l'any 1983, Barbara McClintock ha treballat en l'estudi de determinats elements mòbils del material genètic que poden "saltar" d'una posició a una altra, amb la plasticitat que això comporta per als organismes. Així s'expliquen certes mutacions o variacions en els caràcters hereditaris observables i s'obre una interessant possibilitat d'aplicació pràctica.

Albert Boronat i Margosa (Barcelona, 1950) és Doctor en Farmàcia per l'Universitat de Barcelona (1980).

Pere Puigdomènech i Rosell (Barcelona 1948) és Doctor en Ciències Físiques (Montpeller, 1974) i en Ciències Biològiques (UAB, 1975).

Un xic d'història

Pocs cops trobem en els articles de revistes de primer ordre de biologia molecular citacions de treballs portats a terme fa trenta o quaranta anys. La recerca en aquest camp avança a una velocitat tal, que idees i tecnologies canvien totalment en períodes d'un màxim de cinc anys. Però, darrerament, en algunes de les més prestigioses revistes de biologia molecular, hi trobem citats, no un, sinó una desena d'articles que comencen el 1947 i continuen durant vint anys més. Una altra característica poc usual en la ciència moderna que trobem en aquests articles citats és que només hi ha un autor.

En l'actualitat, els treballs punta en aquest camp necessiten equips sovint nombrosos. Però, en el cas que esmentem hi trobem un sol autor, si bé excepcional, es tracta de Barbara McClintock, la guanyadora del Premi Nobel de Medicina de 1983. Aquesta concessió havia estat llargament esperada perquè representa el reconeixement del treball pioner d'una dona, la qual, al marge sovint de molts dels seus col·legues, va anar demostrant que el missatge genètic no té la rigidesa que se li suposava, sinó que fragments d'ell poden saltar d'un lloc a l'altre, d'un cromosoma a l'altre.

L'organisme biològic en el qual es van descobrir per primer cop els gens saltadors, o com els anomenem avui,

els transposons¹, va ser el blat de moro. Aquest és l'organisme en el qual Barbara McClintock ha treballat per espai de més de quaranta anys. No és una casualitat que sigui el blat de moro on es van descobrir aquests fenòmens, com tampoc ho és que un altre sistema eucariota on s'han descobert els transposons sigui la mosca del vinagre, *Drosophila melanogaster*. Si la petita grandària del genoma de la mosca i la presència dels cromosomes politènics, la fan avui, sense dubte, l'organisme superior més ben conegut des d'un punt de vista genètic, el blat de moro té unes altres propietats que el fan especialment interessant. El gra dels cereals té dues parts ben diferenciades, l'embrió i l'endosperma. Aquest darrer és qui dona les característiques exteriors més visibles del gra, i tots aquells gens que afectin alguna característica de l'endosperma poden ser fàcilment observats sobre la panotxa. Algú ha comparat, amb raó, la panotxa a una placa de Petri sobre la qual podem observar els fenotips, els caràcters genètics observables, en la seva varietat.

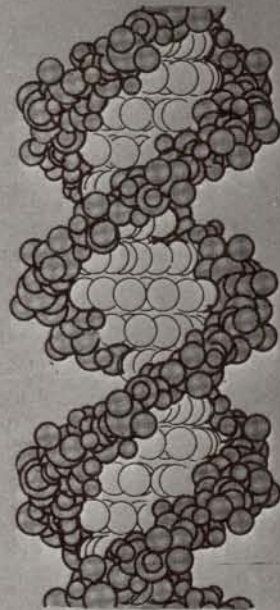
Ja els primers genetistes, a principis de segle, es van adonar dels avantatges del blat de moro com a sistema genètic de privilegi. El pioner en aquest camp va ser R. Emerson, a

partir del qual arrenca una gran part de la tradició científica en genètica vegetal moderna. Un dels seus principals deixebles va ser Barbara McClintock. Aquesta escola de recerca es va ocupar d'investigar la transmissió de caràcters que semblaven molt inestables. Alguns d'aquests caràcters, com la coloració del gra o la seva textura, semblaven poder aparèixer o desaparèixer amb una gran facilitat, donant panotxes amb una gran variació de coloracions o àdhuc variacions a l'interior mateix del gra. Això semblava indicar que durant el desenvolupament del gra un caràcter genètic podia canviar, i la interpretació que es va donar del fenomen era que en aquest procés un "element controlador" saltava d'una posició a una altra. Aquests elements mòbils podien saltar a diferents parts del genoma permetent o suprimint l'expressió de gens o grups de gens determinats. Aquestes hipòtesis van semblar molt complicades per als científics dels anys 50 i 60, però McClintock va anar caracteritzant aquests elements mòbils des d'un punt de vista estrictament genètic. A dos d'aquests elements que semblaven correlacionats els va batejar "Activador" i "Dissociador", donant lloc a famílies d'elements que avui coneixem per Ac/Ds. Actualment, es coneixen els detalls físics d'aquests elements, però ha calgut esperar quaranta anys per tenir aquesta evidència directa. De fet, la naturalesa molecular dels elements de transposició ha estat establerta gràcies principalment a estudis genètics realitzats en bacteris i, també, més recentment, a partir d'estudis d'elements mòbils en llevat i en *Drosophila*.

1. El nom de transposons havia estat principalment aplicat en principi als elements transposables de bacteris portadors de resistències a antibiòtics. Aquesta denominació ha estat estesa als elements de transposició en eucariotes i, en general, a tot element que pugui sofrir el fenomen de la transposició. És aquesta darrera opció la que hem adoptat en el present article.



Fig. 1
Barbara McClintock, nascuda al 1902, ha efectuat els seus treballs al Cold Spring Harbour Laboratory a l'illa de Long Island, prop de Nova York.



Els elements transposables en bacteris

Els primers elements genètics mòbils que van ser caracteritzats a nivell molecular van ser els presents en bacteris. La descoberta de l'existència d'elements mòbils en bacteris va venir donada a través de dues línies d'evidència independents. Es va poder demostrar que tant les mutacions fortament polars com la transferència de la resistència a certs antibiòtics podien estar produïts per elements discrets que podien saltar dins del genoma. Va ser el desenvolupament, a la dècada dels 60, de tècniques que permeten l'estudi físic del DNA, particularment virus i plasmidis, el que aportà les proves de l'existència d'aquests elements mòbils. Més recentment, les tècniques de DNA recombinant han permès l'estudi molt més detallat de l'estructura d'aquests elements. D'aquests en podem distingir, en bacteris, diversos tipus que inclouen els elements IS, els transposons pròpiament dits i el bacteriòfag Mu. Els elements IS (de les inicials angleses de "seqüències d'inserció") són unitats simples, la majoria d'elles amb grandàries que oscil·len entre 1000 i 1500 parells de bases, i que es poden trobar de forma normal i en diferent nombre en el genoma. Els transposons tenen una estructura més complexa (de milers de parells de bases) i contenen un o més gens. El bacteriòfag Mu, amb 37.000 parells de bases,

presenta totes les característiques típiques dels elements de transposició i pot ser considerat, per tant, com un transposó gegant. En realitat, els elements IS i els transposons estan altament relacionats i fins i tot alguns transposons estan flanquejats per elements IS. La principal diferència entre aquests dos tipus d'elements mòbils és que mentre que els transposons especifiquen un caràcter fenotípic fàcilment observable, tal com la resistència a un determinat antibiòtic o toxina, els elements IS només manifesten el seu efecte quan s'insereixen en gens específics, donant com a resultat la pèrdua de les funcions per les quals codifiquen. De fet, l'existència dels elements IS es va posar de manifest en estudiar, en *E. coli*, uns tipus de mutacions fortament polars (és a dir, que afecten també a altres gens adjacents

al gen mutat) i que no es podien explicar mitjançant cap dels tipus de mecanismes mutacionals coneguts en aquells temps. Es va poder demostrar que aquestes mutacions eren degudes a la inserció d'un fragment discret de DNA (l'element IS) en els gens en qüestió. Cal tenir en compte, però, que la capacitat de produir mutacions polars no és una característica exclusiva dels elements IS, sinó també de qualsevol altre element transposable.

Existeixen una sèrie de característiques comunes als diferents tipus d'elements de transposició bacterians i que, d'alguna forma, sembla que és el que els hi confereix el seu comportament tan especial. A nivell estructural presenten sempre, en els seus dos extrems, seqüències de nucleòtids idèntiques, o quasi idèntiques, en sentit invertit. En aquells casos on s'han ob-

TAULA 1.- Seqüències d'inserció presents en *E. coli* K-12.

Seqüència d'inserció	Grandària (parells de bases)	Extrem terminal invertit (parells de bases)	Duplicació flanquejant (parells de bases)	Nombre de còpies en el genoma d' <i>E. coli</i> K12
IS1	768	34	9	6-10
IS2	1327	41	5	4-5
IS3	aprox. 1400	38	3 o 4	5
IS4	aprox. 1400	18	11 o 12	1
IS5	aprox. 1500	?	?	+

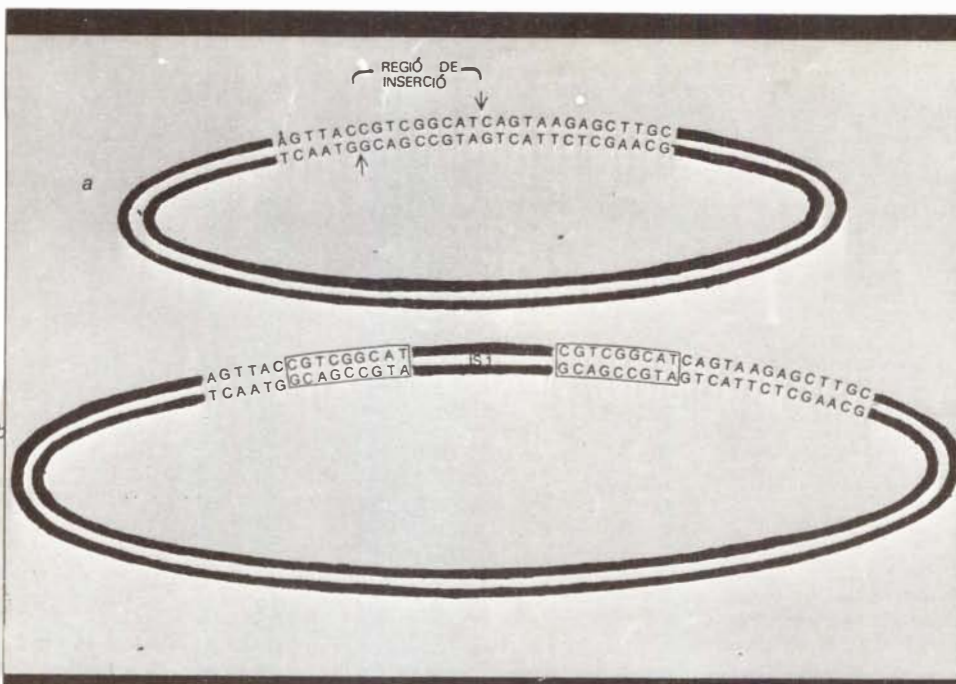


Figura 2:

Esquema de la duplicació de la zona d'inserció d'un element transposable. En aquest cas es representa la inserció del IS1 que genera una duplicació de 9 parells de bases.

servat seqüències terminals repetides directes (és a dir, en la mateixa direcció), s'ha pogut comprovar posteriorment l'existència d'altres seqüències repetides inverses dins de cada extrem repetit, la qual cosa resultava finalment en seqüències extremes repetides inverses dins del transposó. En general, els elements de transposició tenen la propietat d'inserir-se en qualsevol seqüència del DNA, si bé en alguns casos sembla que determinades seqüències són preferides a altres. El procés de transposició en si mateix és independent dels sistemes bacterians de recombinació homòloga, i la inserció pot tenir lloc, per tant, en seqüències que tenen poca o cap homologia amb el transposó. El mecanisme de transposició no es coneix detalladament; en ell semblen intervenir-hi productes de la transcripció de gens continguts en el mateix transposó. Un d'ells seria una proteïna amb funció enzimàtica que ha estat anomenada transposasa. Perquè el procés de transposició es produeixi calen, però, determinades proteïnes de l'hoste i s'acompanya de la duplicació del transposó, de forma que després de la transposició, una còpia es troba en el lloc original, mentre que l'altra s'ha inserit en el nou lloc. El transposó pot escindir-se posteriorment per algun altre mecanisme. Un altre procés que sempre va associat a la inserció del transposó és la duplicació de la seqüència on s'insereix. L'extensió d'aquesta duplicació és característica de cada transposó i pot oscil·lar entre 3 i 12 parells de bases. Tanmateix, és possible que una de les característiques més peculiars dels transposons sigui la

seva propietat de produir reordenaments cromosòmics de les seqüències adjacents al punt d'inserció. Molt sovint, les regions veïnes al lloc on s'ha inserit el transposó es poden invertir, duplicar o deletar amb una alta freqüència. En alguns casos, però, el transposó pot escindir-se netament i regenerar la seqüència on s'havia inserit.

Els transposons com a eina per a la genètica bacteriana

Els transposons han despertat un enorme interès degut al seu gran potencial per ser utilitzats com a eines de treball, molt útils en diferents camps de la genètica i de la biologia molecular. Així, un dels camps on es va trobar una ràpida aplicació dels transposons va ser en l'anàlisi genètica en bacteris. En un principi, aquests nous tipus de tècniques es van desenvolupar en *Escherichia coli* i en *Salmonella typhimurium*, però en l'actualitat han demostrat ser d'aplicació general en l'anàlisi d'altres espècies bacterianes. Existeixen en l'actualitat un gran nombre de tècniques genètiques que comporten la manipulació de transposons. La mutagènesi per transposons és una tècnica àmpliament utilitzada i es pot dir que gràcies a una sèrie d'avantatges està desplaçant a la mutagènesi química clàssica. Això és degut a que es poden aïllar molt fàcil-

ment i amb una alta freqüència mutants provocats per la inserció d'un transposó, amb la seguretat que cada mutant ha sofert únicament i exclusiva una sola mutació. Això és un gran avantatge si es té en compte que els nivells de mutagènesi química necessaris per preveure una recuperació fàcil de mutants comporta exposar les cèl·lules a un tractament molt dràstic i que molt sovint causa múltiples mutacions. Aquest avantatge és degut a la baixa freqüència en què té lloc la transposició, la qual cosa significa que, des del punt de vista pràctic, la probabilitat que es produeixi una transposició doble és molt baixa. Malgrat aquesta baixa freqüència de transposició, el fet de poder seleccionar específicament aquells individus on s'ha produït la transposició (degut a la manifestació fenotípica de la resistència a un determinat antibiòtic associada al transposó) simplifica en gran manera l'anàlisi dels mutants. En efecte, la identificació d'un determinat tipus de mutant queda reduïda a la població que ha adquirit el caràcter de resistència conferit pel transposó, i no, com és el cas de la mutagènesi química, a la població parental sencera.

Una altra aplicació dels transposons en l'anàlisi genètica en bacteris és la seva utilització per generar deletions als voltants del seu punt d'inserció. La importància de generar deletions és òbvia en la cartografia genètica fina i en biologia molecular, sempre que es vol estar completament segur que una determinada funció s'ha perdut. Per altra part, la utilització de soques bacterianes que contenen transposons in-

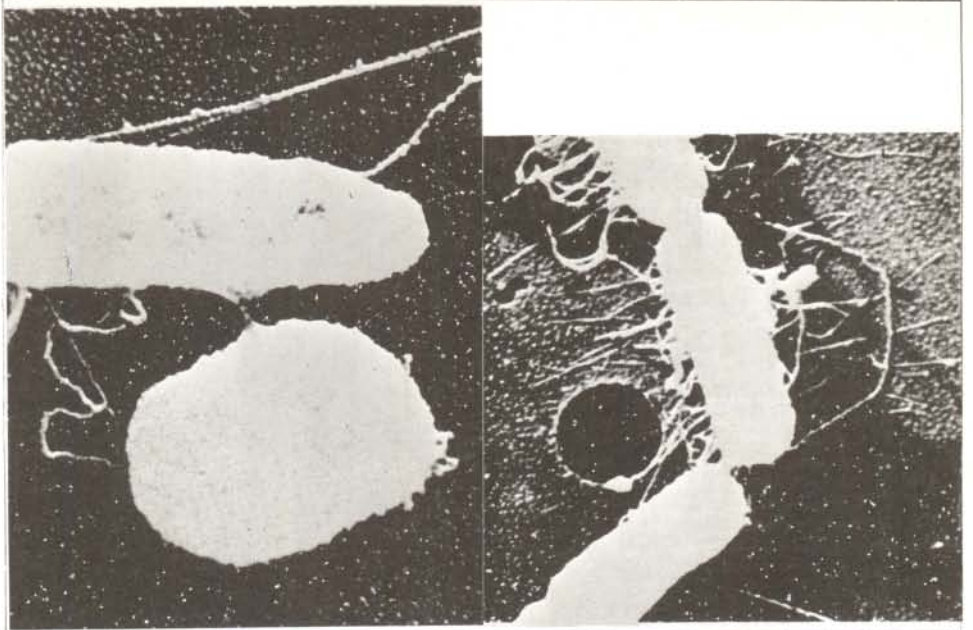


Fig. 3

Micrografia electronica que mostra l'intercanvi sexual entre bacteris *Esterichia coli*.

serits en determinats gens facilita enormement la construcció de soques que presentin determinades combinacions d'al·lels mutants. La utilització de transposons que codifiquen per resistència a antibiòtics ha convertit la construcció de noves soques en una tasca molt més fàcil, apart que permet de fer construccions que no serien possibles d'una altra manera. Així, mutacions generades per un determinat transposó, i que tenen com a conseqüència la pèrdua d'una determinada funció, poden ser transferides d'una soca a una altra mitjançant les tècniques genètiques clàssiques de

transducció o conjugació. La soca receptora pot ser seleccionada de forma positiva pel caràcter de resistència a l'antibiòtic que li confereix el transposó, tot acompanyat de l'adquisició d'un al·lel defectiu d'un determinat gen com a conseqüència de la inserció del transposó en la soca original. Altres vegades, i mitjançant processos similars als descrits anteriorment, la utilització de soques amb transposons inserits a la vora dels gens d'interès pot ser també molt útil en la transferència d'aquests gens (no necessàriament mutats) des d'una soca a una altra.

Els transposons en eucariotes

En l'actualitat, l'existència d'elements genètics mòbils ha estat evidenciada en una gran varietat d'organismes eucariotes. Els primers a ser caracteritzats a nivell molecular amb un cert detall han estat els presents al llevat i en *Drosophila*. I els han seguit altres exemples en animals, en particular en un nematode (*Caenorhabditis elegans*), i en plantes, entre les quals es compta, evidentment, el blat de moro, incloent-hi els famosos elements de McClintock. Les dades que posseïm ara ja ens permeten d'avançar que els transposons en eucariotes són una col·lecció d'elements genètics molt més diversa i heterogènia que no pas els transposons procariotes, tot i que existeixen una sèrie de característiques comunes a tots ells. Els transposons eucariotes estudiats fins al moment presenten tots ells seqüències repetides en els seus extrems. En alguns d'ells, aquestes seqüències repetides es troben en la mateixa orientació, mentre que en altres es troben en orientació oposada. A més, produeixen també la duplicació de la seqüència en la qual s'integren i poden donar lloc a reordenaments cromosòmics en les seqüències adjacents al punt d'inserció.

Els transposons presents en els eucariotes presenten, però, característiques pròpies que no es donen en els dels procariotes. Una d'elles és la diversitat i heterogeneïtat que es poden donar en determinats tipus de trans-

TAULA 2.- Característiques d'alguns transposons de procariotes

Transposó	Fenotip*	Grandària (parells de bases)	Extrems repetits (parells de bases)	Duplicació flanquejant (parells de bases)
Tn 3	Ap	4957	38	5
Tn 5	Km	aprox. 5500	aprox. 1500	9
Tn 9	Cm	2638	768 (ISI, rep. dir.)	9
Tn 10	Tc	aprox. 9300	aprox. 1450	9
Tn 501	Hg	aprox. 8200	38	5
Tn 951	Lac	aprox. 16600	aprox. 150	?
Tn 1699	Ap, Km, Cm	aprox. 9000	aprox. 50	?

* Ap: Resistència a ampicil·lina; Km: resistència a Kanamicina; Cm: resistència a cloramfenicol; Tc: resistència a tetraciclina; Hg: resistència a l'ió mercuric; Lac: operó lactosa (trobat en un plasmidi en *Yersinia enterocolitica*)

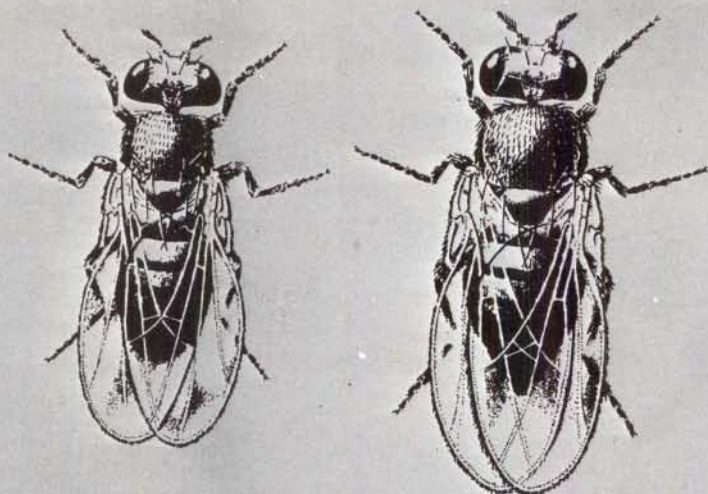


Fig. 4

Drosophila melanogaster (mosca de la fruita), un dels organismes predilectes dels genètics (el dibuix de l'esquerra representa un mascle i el de la dreta una femella).

posons. Per aquesta raó, és més propi referir-se al que s'anomenen "famílies" de transposons que no pas a transposons concrets. Existeixen famílies en les quals els seus components poden ser molt similars entre ells, però n'hi ha d'altres en què els seus elements poden diferir considerablement tant en l'estructura dels seus extrems repetits com en la seva part central. Un cas en què la família de transposons ha estat molt conservada és el dels transposons tipus "còpia" de *Drosophila*, els quals tenen una variació limitada en la grandària global i també en la dels seus extrems repetits directes. En canvi, els elements FB (també de *Drosophila*) són extraordinàriament heterogenis tant en la seva grandària com en els seus extrems repetits.

Entre els transposons eucariotes, uns dels més similars als procariotes són probablement els que s'han trobat en els llevats. En el més treballat d'aquests, el llevat de la cervesa, *Saccharomyces cerevisiae*, els transposons formen un grup d'elements denominats Ty. Es tracta de fragments d'aproximadament 6 kb, on, en els seus extrems, es troben seqüències repetides de 330 parells de bases orientats en la mateixa direcció. Aquestes seqüències repetides estan molt conservades entre els diferents elements. En les soques habituals de *S. cerevisiae* hi han de l'ordre de 30 a 35 còpies d'elements Ty. Els elements Ty deixen darrera seu, en escindir-se, una petita seqüència repetida que és de 5 parells de bases. Ha estat identificat el producte de la seva transcripció, que es fa partint d'un dels extrems i que

arriba a l'altre extrem. Es desconeix encara si aquest RNA dona lloc a una proteïna i la funció d'aquesta.

Els transposons en l'anàlisi i manipulació genètica d'eucariotes

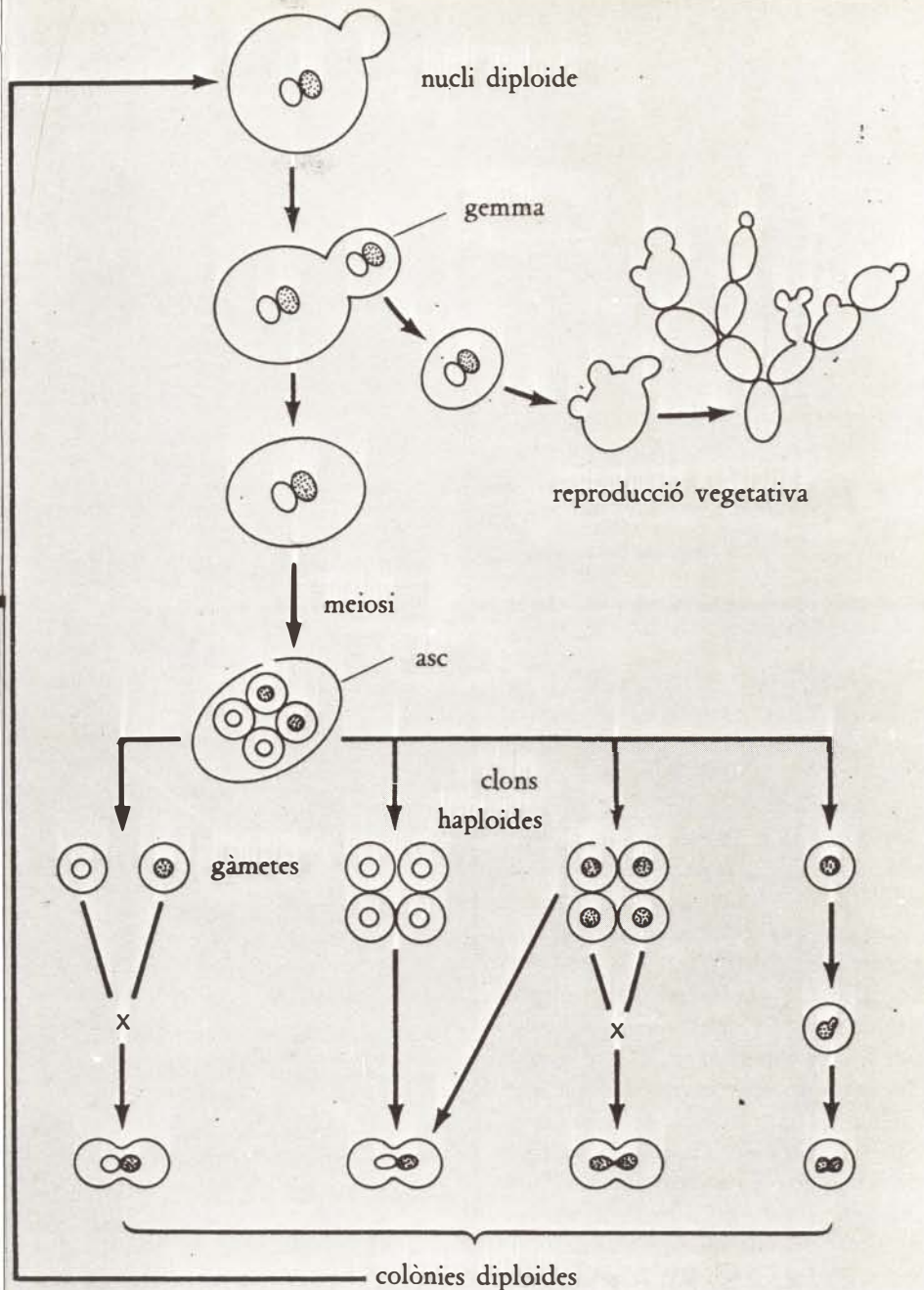
De forma similar a com ha estat descrit en els procariotes, els

transposons d'eucariotes s'estan també utilitzant com a eines de gran valor en l'estudi de gens eucariotes. Una de les seves aplicacions ha estat en l'aïllament de gens, sobretot en aquells organismes on és possible de portar a terme una anàlisi genètica detallada. En aquest cas, molts gens són coneguts i detectats en virtut dels efectes causats per mutacions, encara que no es conegui en absolut la naturalesa dels productes pels que codifiquen. Això és molt normal en el cas d'aquells gens que tenen un paper re-

TAULA 3.- Característiques d'alguns transposons d'eucariotes

Transposó	Organisme	Grandària (parells de bases)	Extrems repetits (parells de bases)	Duplicació flanquejant (parells de bases)	Nombre de còpies per genoma
Ty	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (llevat)	6300	330 (Directes)	5	30-35
Tc1	<i>Caenorhabditis elegans</i> (Nematode)	1610	54 (invertits)	2	20-200
còpia	<i>Drosophila melanogaster</i>	5000	276 (directes)	5	20-60
P	<i>Drosophila melanogaster</i>	500-2900	31 (invertits)	?	5000
FB	<i>Drosophila melanogaster</i>	500-5000	250-1250 (invertits)	9	30
AC/DS	<i>Zea mays</i>	4300	?	?	?

Fig. 5
Cicle biològic del llevat.



gulador en el control de l'expressió genètica o en el curs de la diferenciació cel·lular durant els processos de desenvolupament. En aquests casos, un mètode factible, i que ja s'ha utilitzat en un nombre considerable de casos per l'estudi i l'aïllament d'aquests tipus de gens, és utilitzar mutacions causades per la inserció d'un transposó que s'ha clonat prèviament. El transposó pot ser utilitzat en aquests casos per identificar les seqüències d'interès a partir d'un banc de clons preparat de la soca mutant. Fent servir aquests clons, i utilitzant les seqüències adjacents al punt d'inserció del transposó, se'n poden obtenir d'altres a partir d'un banc de clons preparat de la soca tipus salvatge i que contenen el gen original.

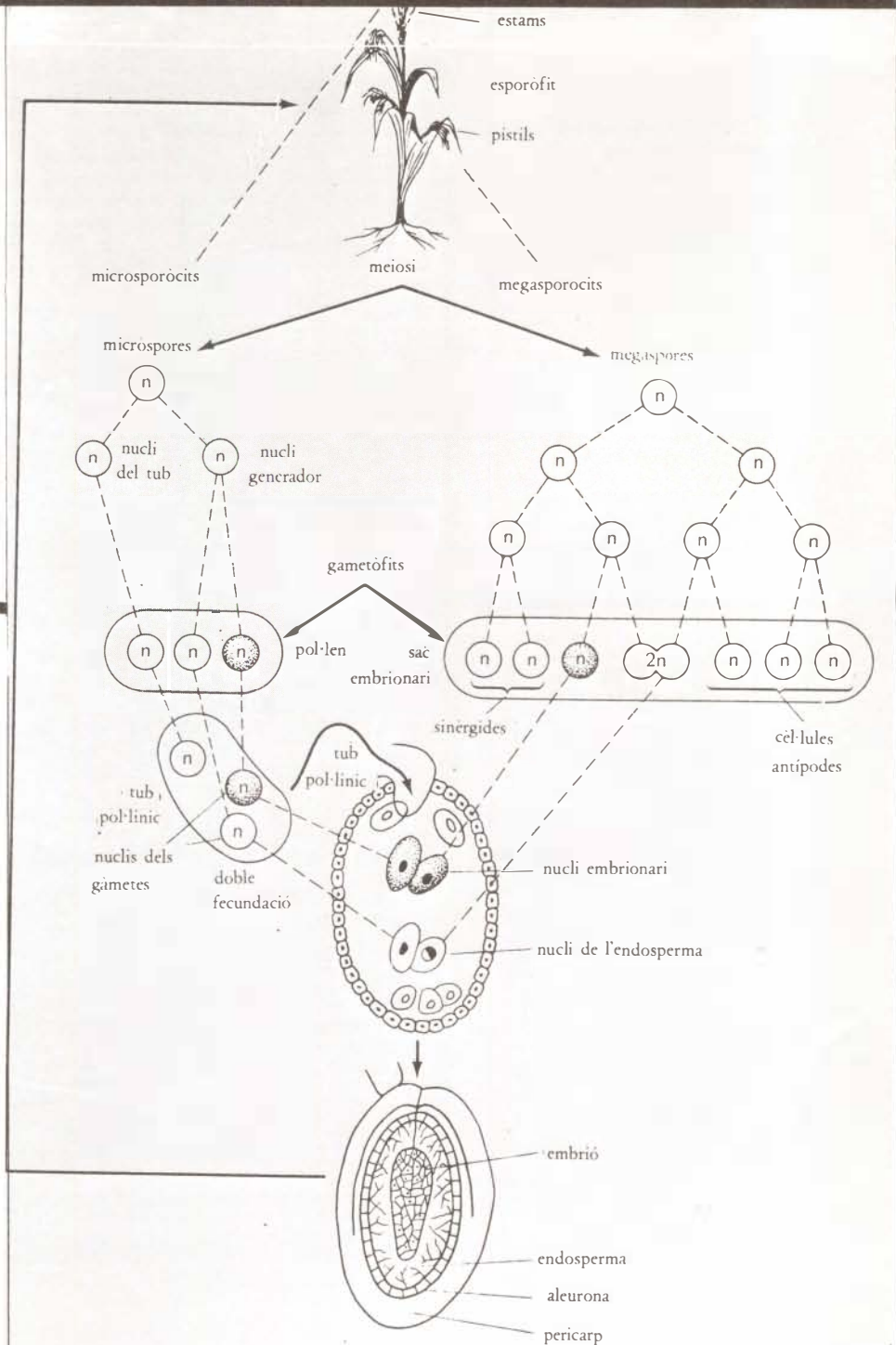
Els transposons no són únicament interessants per les possibilitats que ofereixen d'accedir a una nova informació sobre com funciona la maquinària genètica. Presenten també unes grans possibilitats per introduir informació genètica nova en diferents sistemes cel·lulars. Els primers d'aquests transposons que han estat utilitzats són els elements P de *Drosophila*. Els elements P de *Drosophila* són elements genètics repetitius presents només en certes soques (les anomenades soques P) i que estan absents en altres (soques M). En híbrids entre una soca P i una soca M (especialment quan el creuament es produeix entre un pare P i una mare M), els elements P aportats pel pare es converteixen en altament inestables i donen lloc a l'anomenada síndrome de disgenesis híbrida, en la qual els elements P provinents de les soques P transposen amb una alta fre-

quència sobre els cromosomes aportats per la soca M. Com a resultat s'observa una alta freqüència d'esterilitat, mutacions i aberracions cromosòmiques. L'estudi d'aquests efectes ha aportat una dada important: sembla que existeixi un mecanisme que regula el nombre de transposons en la cel·lula, ja que, si bé el fenomen de la transposició es desencadena en creuar soques que en tenen amb d'altres que no en tenen, el procés s'atura en arribar a un cert nombre de transposons en el genoma.

Transposons de la família P han estat clonats i estudiats en detall, observant-se que n'hi ha de dos tipus. Un d'ells, constituït pels anomenats elements P complets, presenten els extrems repetits invertits i es pot deduir, a partir de la seva seqüència de

nucleòtids, que posseeixen la capacitat de codificar fins a tres proteïnes, la qual cosa suggereix que podrien codificar pels enzims necessaris per a la seva transposició. L'altre tipus, compost per elements de menor grandària, representarien elements defectius, si bé conserven els seus extrems repetits invertits i només poden transposar en presència dels elements P complets. Quan aquests elements P són microinjectats aïlladament en embrions de soques M, el procés de transposició també té lloc, i els elements P poden incorporar-se de forma estable en el genoma de la soca receptora. La microinjecció d'embrions amb una barreja d'elements P complets i d'altres en els quals s'hi ha inserit, mitjançant tècniques de DNA recombinant, un altre gen, té com a conseqüència la

Fig. 6
Cicle biològic del blat de moro.



transposició dels elements P al genoma, tot portant amb ells el gen que contenen. El primer gen que va ser introduït a *Drosophila* mitjançant aquesta tècnica va ser el gen 'rosy'. Les mosques mutants en el gen 'rosy' tenen els ulls marrons, donat que no tenen l'enzim xantin deshidrogenasa necessari per sintetitzar el pigment vermell típic de l'ull, per la qual cosa es facilitava enormement la selecció de les mosques que havien adquirit, i que a més expressaven, el nou gen, ja que aquestes presenten els ulls vermells. La introducció del gen 'rosy' tipus salvatge en mosques portadores de la mutació en aquests locus tot restaurant el fenotip normal és un bon exemple del que es coneix com a 'teràpia gènica'. Avui són ja un nombre considerable els gens que han estat introduïts i que s'expressen correctament en *Drosophila*.

En l'actualitat, experiments de transferència de gens utilitzant transposons tal com els descrits anteriorment, només s'han portat a terme en *Drosophila*, però es preveu que en el futur es puguin aplicar sistemes similars en altres organismes. En aquest sentit, el sistema de transposons Ac/Ds del blat de moro està sent estudiat intensament com a possible vehicle per a la introducció de gens en aquest cereal. La família de transposons coneguda, per Activador/Dissociador en el blat de moro, seguint la nomenclatura de Barbara McClintock, té alguna similitud amb els elements P de *Drosophila*. Ja se sabia per l'anàlisi genètica que Ds només s'activava en presència d'Ac. En l'actualitat, l'estructura d'aquests dos elements trans-

posables és coneguda i s'ha pogut comprovar que es tracta d'un cas semblant al dels elements P de *Drosophila*, en el sentit que Ds és un element anàleg a Ac, però que ha perdut la informació que li permet d'efectuar la transposició, i necessita per tant, de la presència d'Ac. Un punt que aquests elements permet de considerar és que l'activació de seqüències transposables dona lloc a reordenaments cromosòmics que poden ser molt importants. En el cas del blat de moro això pot produir aberracions cromosòmiques de gran importància. Les conseqüències d'aquests efectes podrien ser grans

sobretot per als animals. Es pot pensar que baixes dosis de mutàgens, ja siguin químics o provinents de radiacions, poden desencadenar el moviment de transposons, i aquests donar lloc a reordenaments cromosòmics d'importància.

La transformació de cèl·lules vegetals per introducció de gens exògens ha demostrat ser més fàcil del que es preveia a priori. En l'actualitat, existeix un mètode basat en elements genètics mòbils presents en els plasmid Ti d'*Agrobacterium* que permet assoliments de transformació en cèl·lules vegetals molt més elevats que en sis-

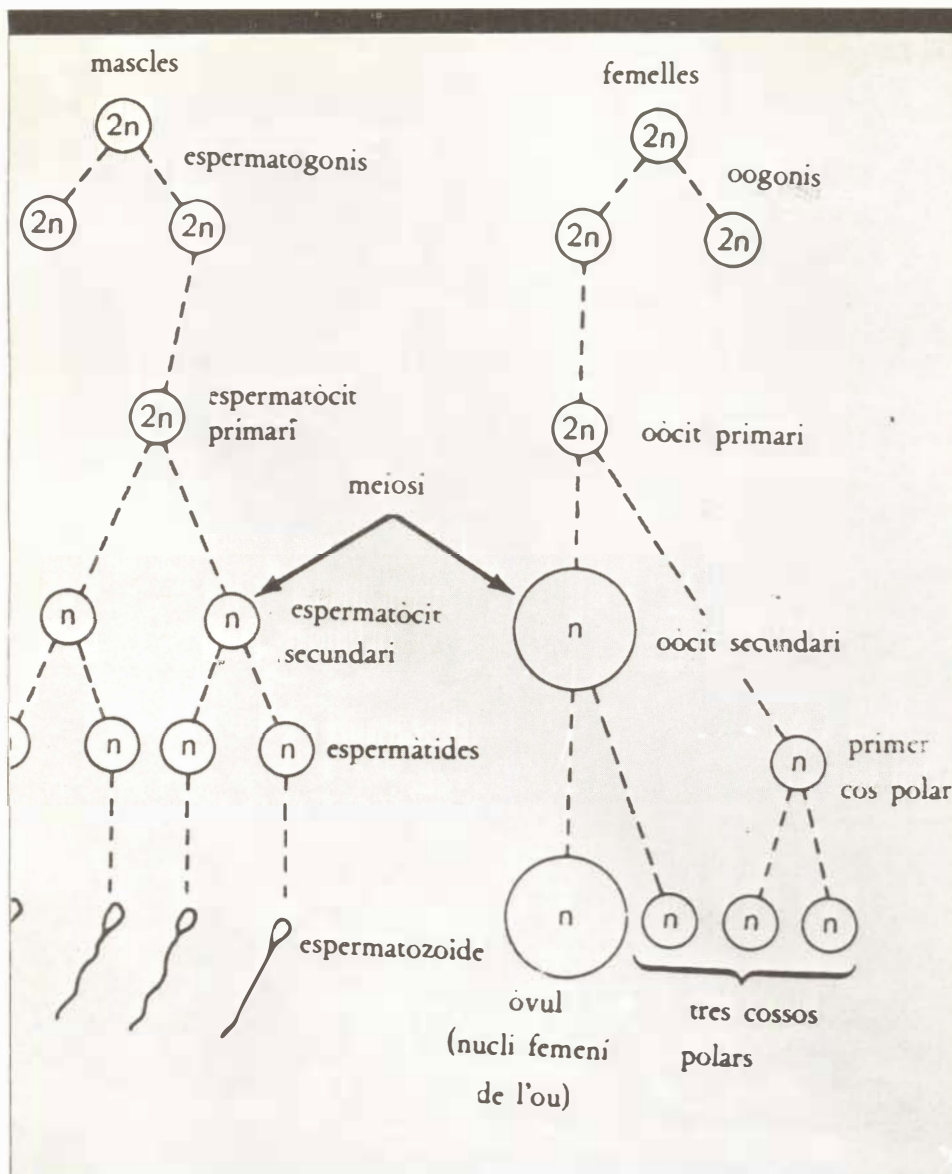


Fig. 7
Gametogènesi dels animals superiors.

temes animals. A més, les especials característiques dels vegetals permeten fàcilment que la planta sencera sigui regenerada. Aquest mètode té una limitació molt important i és que només és aplicable a plantes dicotiledònies. Malauradament, moltes de les plantes d'interès econòmic, en particular els cereals, queden fora d'aquest camp. Grups arreu del món estan estudiant dues possibilitats per a la introducció de gens en plantes monocotiledònies que estan basades en la utilització de virus o d'elements d'inserció com els Ac/Ds. Les perspectives a mig termini, si això s'arriba a aconseguir, són immenses.

Altres elements mòbils

Els transposons són els elements mòbils més característics entre els

estudiats, tant en procarïotes com en eucariotes. No són, però, els únics. Hi ha preciosos exemples d'altres fragments de DNA que poden ser mobilitzats entre diferents llocs dels cromosomes. Un d'aquests exemples el trobem en l'anomenada variació de fase en *Salmonella*. Es tracta d'un sistema de regulació de dues formes d'una de les proteïnes del flagel, la flagelina. Les dues formes es troben codificades per dos gens diferents. L'expressió d'un d'ells, l'anomenat H2, s'acompanya de la síntesi d'una proteïna que actua com a repressora de l'expressió de l'altre, anomenat H1, i així només se n'expressa un. Però el promotor del gen d'H2 es troba en una seqüència de 970 parells de bases que pot invertir-se tota ella. Quan això passa, la proteïna del gen H2 no s'expressa i tampoc no ho fa la del repressor d'H1, posant-se aquest gen en marxa. En aquest cas tenim, doncs, que la inversió d'un fragment de DNA és un element regulador de l'expressió alternativa d'un parell de gens. Això ha obert interessants especulacions sobre com aquest meca-

nisme de control pot haver evolucionat en *Salmonella*, potser a partir d'un transposó.

El sistema immunitari dels animals ens proporciona un exemple excel·lent de com un gen pot ser construït per la combinació de fragments molt diversos de DNA. Ha estat comprovat que la varietat d'anticossos que se sintetitzen per tal de respondre a la invasió de substàncies estranyes prové de recombinacions de certs elements mòbils que, en unir-se, donen lloc a una varietat de gens que codifiquen per proteïnes molt diferents. Curiosament, un altre bon exemple de mobilitat de gens ens el dona un paràsit que utilitza un sistema molt semblant, però, en aquest cas, per contrarestar la variabilitat dels anticossos. Ha estat demostrat que les proteïnes de superfície dels tripanosòmes tenen una extraordinària variabilitat. Aquesta ve donada per una estratègia similar a la de la producció dels anticossos, és a dir, que el gen que codifica per la proteïna de superfície, que és el principal antigen contra el qual van dirigits els anticossos de l'organisme infectat, pot variar a base de combinar diferents fragments de DNA. D'aquesta manera, quan l'organisme ha sintetitzat un anticòs dirigit contra la proteïna de superfície del tripanosoma, el gen que la codifica ha sofert una nova combinació de fragments, donant lloc a la síntesi d'una proteïna que l'anticòs no és capaç de reconèixer. Aquest fenomen ens ha donat l'exemple d'una adaptabilitat evolutiva extraordinària basada en la mobilitat d'elements gènics.

Un últim exemple que podem citar,

Fig. 8

Blat de moro, organisme de treball de Barbara McClintock



entre d'altres també igualment interessants, és el de gens que són introduïts per un bacteri en el genoma d'un organisme superior. El bacteri *Agrobacterium tumefaciens* ataca plantes dicotiledònies que han sofert ferides externes. Es aleshores capaç de fer que la planta sintetitzi unes substàncies que utilitzarà com a font d'energia. El mecanisme que utilitza *Agrobacterium* ha estat descobert. El bacteri és portador d'un plasmidi, anomenat Ti, unes seqüències determinades del qual s'introdueixen en la cèl·lula i que s'integraran en el genoma de la planta. Aquestes seqüències porten informació tant per sintetitzar les substàncies que el bacteri utilitzarà per viure com per produir una proliferació tumoral de la planta. Aquest sistema, com ja ha estat esmentat anteriorment, és per ara el que ofereix unes millors possibilitats per transferir gens en plantes superiors.

Paràsits o indispensables

La recerca sobre els transposons en els darrers anys ha permès de conèixer moltes de les seves característiques. Queden per contestar, però, moltes preguntes: com són el mecanisme de transposició, l'existència de nous tipus d'elements mòbils que no coneixem encara, la seva presència en altres organismes (en particular en animals superiors): si és factible que siguin utilitzats com a vectors per

l'enginyeria genètica. Però la seva mateixa existència planteja la pregunta sobre la seva funció. I aquí trobem dues escoles de pensament. Per a alguns autors es tracta de seqüències paràsites que tenen una evolució pròpia i que es comporten com un patogen encara més primitiu que un virus. Per a altres, els transposons són seqüències d'importància per a funcions de l'organisme que encara no comprenem suficientment bé. És aquesta una qüestió que no està per ara resolta i que té una gran importància, tant pels seus aspectes evolutius com per les seves possibles conseqüències respecte als mecanismes de la diferenciació cel·lular.

Hi ha indicis que vindrien a confirmar que es tracta de seqüències paràsites. El més important, sens dubte, és que hi ha homologies de seqüència entre transposons i virus. Per a al-

guns, això indicaria que ens trobem davant d'avantpassats dels virus, en particular dels retrovirus que s'integren en el genoma i que poden quedar en estat latent. O també, per contra, es podria tractar de virus que han perdut algunes de les seves funcions i, per tant, ja no poden passar a altres organismes. En qualsevol cas, la seva funció, que sens dubte duen a terme de forma eficaç, seria únicament la d'autoperpetuar-se, causant-li de vegades, a la cèl·lula, la pèrdua de certes funcions. En aquests casos, se'ls podria considerar ben bé com a agents patògens.

Per a altres autors, els transposons venen a cobrir una funció que té una gran importància evolutiva, la de crear o fer desaparèixer de cop noves funcions. La importància d'aquest fet en l'aparició de noves espècies biològiques ha estat indicada. En *Drosop-*



Fig. 9

Desde que Mendel va iniciar la genètica moderna, heu aquí les persones que han rebut el Premi Nobel de Medicina per treballar en aquesta especialitat.

Textos de consulta

- "Elementos genéticos transponibles." Stanley N. Cohen i J. A. Shapiro (1980) *Investigación y ciencia*, 43, 16-26
- "Transposable elements in prokaryotes." N. Klechner (1981) *Annual Review of Genetics*, 15, 341-404.
- "Mobile genetic elements." *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology*, vol. 45, any 1981.
- "Transposable elements." M.P. Calos i J.H. Miller (1980) *Cell*, 20, 579-595.
- Mobile genetic elements*. Editat per J.A. Shapiro, Academic Press, Londres, any 1983.

bilis mateix es produeixen fenòmens de reordenament que donen lloc a diferències semblants a les observades entre les espècies. Els elements transposables serien des d'aquest punt de vista factors decisius en l'evolució. A un altre nivell, les propietats reguladores de gens adjacents que tenen aquests elements han portat a alguns, entre ells a Barbara McClintock, a proposar que es tracta d'elements que serveixen per posar en marxa, en moments determinats del desenvolupament, un conjunt definit de gens. El nostre desconèixement dels mecanismes de la diferenciació cel·lular no ens permet per ara de respondre a aquestes hipòtesis. El que sí és cert és que en casos en què es necessària una especialització cel·lular cap a la síntesi d'alguna molècula específica, com són els anticossos, es produeixen reordenaments en els gens. ¿Són doncs, els

transposons, una font de variabilitat gènica en els procariontes, que els permet de sobreviure, que en els organismes superiors intervenen en els processos de regulació de la diferenciació cel·lular i que poden tenir una "patologia" creadora de mutacions que l'evolució aprofita? No hi ha dubte que les qüestions obertes pel descobriment dels elements transposables han obert unes possibilitats d'aprofundir en algunes de les qüestions més fonamentals de la biologia. Si a això hi afegim les possibilitats d'utilització pràctica d'aquests elements, comprendrem l'interès extraordinari que els transposons han despertat.

**Albert Boronat
i Pere Puigdomènech**
Institut de Biologia de
Barcelona del CSIC