

## DNA RECOMBINANT I TERÀPIA GENÈTICA

LLUÍS CORNUDELLA

*Unitat de Química Macromolecular.  
Institut de Química Bio-Orgànica  
del C.S.I.C.  
Barcelona.*

Les tècniques recentment desenvolupades de la recombinació del DNA i de la clonació molecular ensems estan facilitant la caracterització, aïllament i amplificació de seqüències de DNA humà que codifiquen per a proteïnes específiques. Sense cap dubte aquesta nova tecnologia esdevé essencial en qualsevol intent d'establir una terapèutica molecular de malalties genètiques en l'home.

La tècnica del DNA recombinant ha fet ja possible la clonació d'una sèrie de fragments de DNA eucariòtic en l'*Escherichia coli*. Una de les alternatives a l'abast per a la clonació de seqüències de DNA de cèl·lules humanes consisteix en purificar el missatger específic de la proteïna desitjada i emprar-lo per a sintetitzar una molècula complementària de DNA bicatenari per mitjà de la transcripció inversa *in vitro*. Després d'alterar els extrems de la molècula complementària de DNA, aquesta es pot entrelligar amb un vector apropiat i procedir a la clonació del seg-

ment de DNA per transfecció del *E. coli*. Aquest darrer procediment ha estat ja utilitzat per diversos grups d'investigadors per a assolir la clonació de gens humans com els de la globina i el del lactogen de placenta.

L'aïllament de fragments específics de DNA de procedència humana per clonació és solament un primer pas en el desenvolupament d'una terapèutica genètica humana. La caracterització funcional i estructural del DNA humà clonat és un segon requisit indispensable per a atènyer les etapes subsegüents. La caracterització funcional és necessària per a assegurar que els segments clonats retenen no solament la seqüència codificadora per a la proteïna cercada, si no també les seqüències adjacents apropiades que regulen els processos de transcripció i traducció. Les altres fases en la definició i establiment d'una terapèutica genètica consisteixen en l'amplificació dels gens humans aïllats i la posterior segregació dels vectors de clonació

utilitzats. Aquests darrers procediments són simples extensions de tècniques ja elaborades. La clonació de gens humans ja sigui en vectors bacteriofàgics o plasmidis pot proporcionar quantitats significatives dels fragments de DNA humà desitjats. El trencament del DNA recombinant amb els enzims de restricció ja emprats en la fragmentació inicial del DNA humà, facilitarà la separació dels fragments buscats respecte dels vectors de clonació. En definitiva, la caracterització, aïllament i amplificació de gens específics humans és doncs tècnicament factible amb els procediments de clonació molecular dels que ja avui es disposa.

El pas molecular últim en el desenvolupament d'una teràpia genètica, ha de consistir en la re-inserció del DNA humà específic, clonat i funcional, en les cèl·lules d'un pacient amb una malaltia genètica. Per a un cert grup de lesions genètiques, això pot implicar una operació intermediària per la qual es puguin extreure cèl·lules del moll de l'os d'un malalt per tal d'inserir-les-hi *in vitro* el gen seleccionat i subsegüentment reimplantar-les en el pacient. La re-introducció es pot entendre com una integració física del DNA funcional mitjançant un vector adequat en el DNA cromosòmic de les cèl·lules del malalt. Es disposa actualment de vectors hàbils per a inserir fragments clonats de DNA en els cromosomes malgrat que amb una eficiència limitada.

En síntesi, les tècniques del DNA recombi-

nant i de la clonació molecular permeten aïllar i amplificar seqüències de DNA codificadores de proteïnes específiques. Així mateix es disposa de vectors —o poden construirse'n de nous— per a integrar els fragments clonats en el DNA dels cromosomes. De tota manera la possibilitat tècnica del conjunt d'operacions moleculars necessàries en l'establiment d'una potencial terapèutica genètica no ha estat avaluada. Tanmateix però, les noves tècniques de clonació han ampliat sensiblement el coneixement relatiu a l'organització i funcionament dels gens en les cèl·lules animals, la qual cosa és essencial per a una aproximació realística a la terapeùtica genètica humana. Ens trobem en un moment adient per a avaluar els diferents aspectes implicats en el desenvolupament d'una terapèutica d'aquestes característiques.

En la definició d'aquesta terapèutica s'ha de distingir entre casos d'aplicació somàtica en els que si troben implicades qüestions de seguretat i eficàcia de potencials tractaments a individus que ja existeien, o bé, aquells casos més complexos que contempen la possibilitat de tractament genètic dels nonats. Es també indispensable esmentar que qualsevol decisió pertocant el fet d'elaborar una teràpia genètica humana a nivell molecular aprofitant les noves tecnologies descrites aquí, planteja qüestions ètiques i socials que no poden ésser de cap manera arraconades o deixades de banda.