

2 STRUCTURA ACIZILOR NUCLEICI

2.1 INTRODUCERE

Trăsăturile (caracterele) ereditare se caracterizează prin capacitatea de a se transmite de la o generație la cealaltă. Caracterele ereditare sunt determinate de “factorii” genetici, iar totalitatea acestora alcătuiesc **genotipul** unui organism. În timpul vieții oricărui organism genotipul acestuia funcționează (adică se exprimă), iar din interacțiunea genotipului cu mediul rezultă manifestarea “vizibilă”, denumită **fenotip**. Toate funcțiile unui organism, fie el unicelular, fie pluricelular, sunt îndeplinite cu ajutorul materialului genetic.

Genetica este știința care studiază caracterele ereditare ale organismelor, structura și funcționarea acestora, modul în care se transmit la descendenți. Datorită dezvoltării tehnicilor de studiu în ultimii douăzeci de ani, în prezent genetica este reprezentată de un complex întreg de științe, de la citogenetică clasică, până la inginerie genetică.

Setul complet de informație genetică dintr-un organism poartă numele de **genom**. Cercetările desfășurate pe întindere de aproape un secol au demonstrat că toate organismele descrise pe Terra până în prezent au genom format din acizi nucleici. Mai mult decât atât, la toate organismele, atât cele procariote, cât și cele eucariote, au genomul format din ADN. Se poate deci spune că molecula ADN reprezintă materialul genetic aproape universal pe Pământ. O excepție notabilă o reprezintă anumite virusuri, la care materialul genetic este reprezentat de molecule ARN.

Viața - flux continuu de informație

Dintr-un anumit punct de vedere, viața ar putea fi definită și ca un flux continuu de informație. Astfel, materialul genetic conține informație pentru:

- formarea tuturor structurilor unei celule
- pentru diferențierea unor diverse tipuri de celule și țesuturi
- pentru desfășurarea tuturor reacțiilor biochimice și, în final, fiziologice
- multiplicarea celulelor și pentru înmulțirea organismelor
- pentru moartea celulară și chiar și pentru moartea unui organism întreg

2.2 STRUCTURA PRIMARĂ A ACIZILOR NUCLEICI

Acizii nucleici reprezintă molecule foarte complexe, produse atât de organisme vii (celule), cât și de virusuri. Denumirea de „acizi nucleici” se datorează faptului că prima oară au fost izolate din nucleii de celule. Cercetări ulterioare au dovedit însă faptul că anumite tipuri de acizi nucleici nu se găsesc în nucleu, ci în citoplasmă.

În ansamblu, acizii nucleici îndeplinesc două funcții biologice majore:

- transmit informația ereditară de la o generație la alta
- conțin informație pentru producerea de proteine specifice

Există două categorii majore de acizi nucleici : acid deoxiribonucleic (pe scurt, ADN) și acid ribonucleic (pe scurt, ARN).

O molecula de acid nucleic este formată din unități de bază, numite **nucleotide**, legate între ele prin legături chimice de tip covalent (legături fosfodiesterice).

Fiecare nucleotidă este alcătuită din 3 categorii de molecule, și ele legate între ele (Figurile 2.2 și 2.3):

- bază azotată
- pentoză (un zahar format din 5 atomi de carbon)
- un rest de radical fosforic

Atât în structura ADN, cât și în ARN, există 4 tipuri majore de baze azotate:

adenină, timină, citozină, guanină - în ADN

adenină, uracil, citozină, guanină - în ARN

Adenina și guanina sunt baze azotate derivate din structura purinei și, ca atare, mai sunt numite și baze purinice (sau, simplu purine). Timina, citozina și uracilul sunt derivate din structura pirimidinei – baze pirimidinice/pirimidine (Figura 2.2). În mod curent, cele 5 baze azotate se prescurtează A, T, C, G și, respectiv, U.

Pentoza este, fie riboză – în ARN, fie deoxiriboză – în ADN (Figura 2.4)

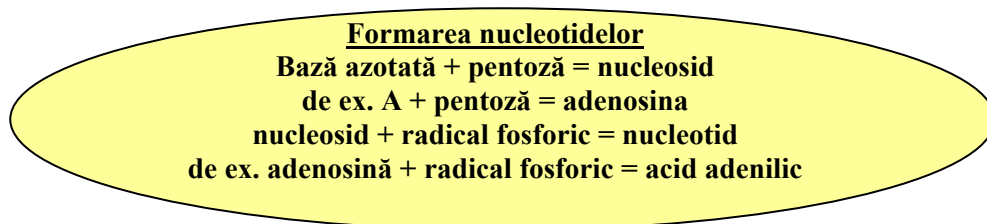


Figura 2.1 Clasificarea nucleosidelor și a nucleotidelor.

Denumirea nucleosidelor și a nucleotidelor

		Baze azotate			
		Purine		Pirimidine	
		Adenină (A)	Guanină (G)	Citozină (C)	Uracil (U) Timină (T)
Nucleoside	în ARN în ADN	adenosina Deoxiadenosina	guanosină deoxiguanosină	citidină deoxicitidina	uridină Deoxitimidină
Nucleosid mono-, di-, trifosfați (în ARN)		AMP, ADP, ATP	GMP, GDP, GTP	CMP, CDP, CTP	UMP, UDP, UTP
Deoxinucleosid mono-, di-, trifosfați (în ADN)		dAMP dADP dATP	dGMP dGDP dGTP	dCMP dCDP dCTP	dTMP dTDP dTTP
Nucleotide	în ARN în ADN	acid adenilic acid deoxiadenilic	acid guanosilic acid deoxiguanosilic	acid citidilic acid deoxicitidilic	acid uridilic acid deoxitimidilic

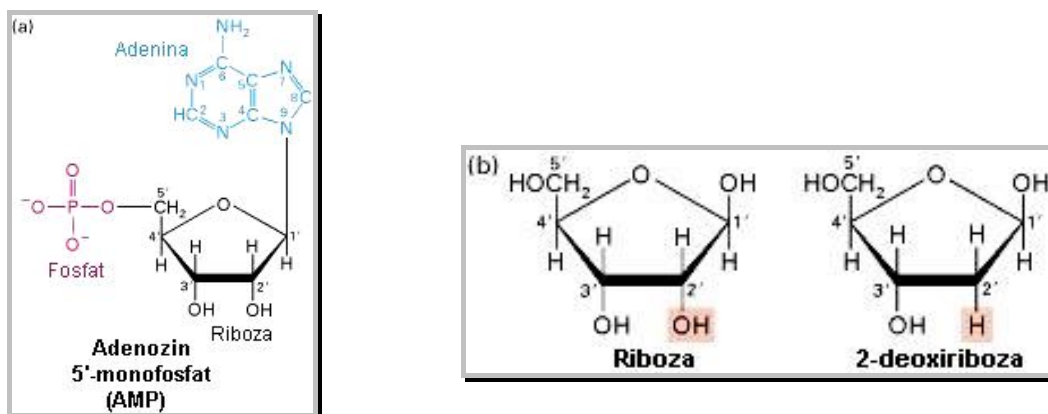


Figura 2.2 Toate nucleotidele au același plan general de structură. (a) Structura chimică a riboadenosin 5'-monofosfatului (AMP), nucleotid prezent în moleculele ARN. (b) Structura chimică a celor 2 zaharuri prezente în moleculele de acizi nucleici: riboză în ARN și 2-deoxiriboză în ADN.

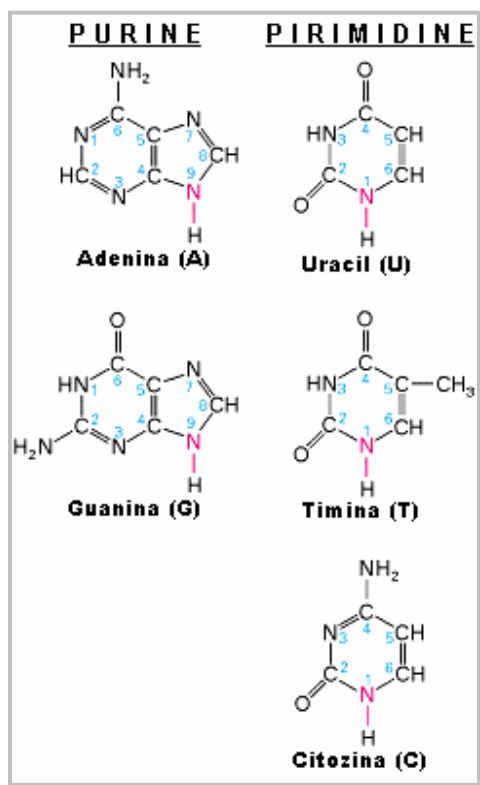


Figura 2.3 Structura chimică a principalelor baze azotate din acizii nucleici. Azotul din poziția 9 (N9) al purinelor și azotul 1 (N1) al pirimidinelor se leagă la carbonul din poziția 1' (C1') al unei molecule de riboză sau deoxiriboză.

2.3 STRUCTURA SECUNDARĂ A ACIZILOR NUCLEICI

Nucleotidele se leagă între ele prin legături fosfodiesterice ce se formează între o pentoză a unui nucleotid și radicalul fosforic al nucleotidului următor. Asemenea lanțuri de nucleotide poartă numele de **catene polinucleotidice** și reprezintă structura primară a unui acid nucleic. Astfel de molecule sunt, deci, **monocatenare** (prescurtat **m.c.**)

Mai toate tipurile de acizi ribonucleici (ARN) sunt formate dintr-o singură catenă polinucleotidică, în timp ce majoritatea moleculelor de ADN sunt alcătuite din două catene polinucleotidice, având astfel și o structură secundară. Asemenea molecule sunt **dublucatenare** (prescurtat **d.c.**).

Formarea unor molecule de acizi nucleici dublucatenare respectă o serie de legi chimice, ce poartă numele cercetătorului care le-a descris prima oară – Chargaff (vezi caseta cu Legile lui Chargaff).

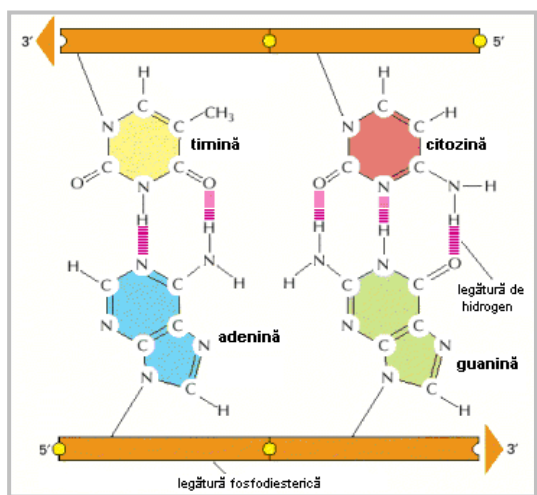


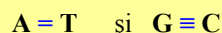
Figura 2.4 Reprezentare schematică a unei porțiuni dintr-o moleculă de ADN d.c.

Legile lui Chargaff

1. cele 2 catene polinucleotidice sunt complementare una față de cealaltă

Aceasta înseamnă că unei adenine de pe una din catene îi corespunde o timină pe cealaltă catenă, de care se leagă prin 2 legături de hidrogen ($A = T$); se spune, deci, că adenina este complementară cu timina. În mod similar, guanina este complementară cu citozina, de care se leagă prin 3 legături de hidrogen ($G \equiv C$).

Se deduce că legăturile de hidrogen permise sunt:



În moleculele de acizi nucleici dublucatenare dar formate dintr-o catenă ADN și o catenă ARN (asemenea molecule hibrid se formează de obicei în procesul de transcriere genetică), adeninelor din catena ADN le corespund în catena ARN molecule de uracil. Și în acest caz se formează tot 2 legături de hidrogen: $A = U$.

2. într-o moleculă de acid nucleic d.c. purinele sunt în raport echimolar cu pirimidinele

Această regulă este, de fapt, o consecință a primei legi. Astfel, dacă oricărei A de pe una din catene îi corespunde o T pe cealaltă catenă și oricărei G îi corespunde o C, atunci numărul moleculelor de adenină este egal cu numărul celor de timină, adică $A = T$ și, respectiv, $G = C$.

De aici, prin adunarea celor două ecuații, se deduce: $A + G = T + C$

Deci, numărul purinelor dintr-o moleculă de acid nucleic d.c. este egal cu numărul pirimidinelor. Altfel spus, cele două tipuri de molecule se află în raport echimolar.

3. cele două catene polinucleotidice dintr-o moleculă de acid nucleic d.c. sunt antiparalele

O catenă polinucleotidică are două capete: la un capăt se află carbonul din poziția 5' (C5') al unei pentoze, iar la celălalt capăt se află carbonul din poziția 3' (C3') al unei alte pentoze. În interiorul unei celule o asemenea catenă polinucleotidică este sintetizată chiar în această direcție: $5' \rightarrow 3'$.

Cele 2 catene polinucleotidice ale unei molecule d.c. sunt în orientări inverse una față de cealaltă: capul 5' al fiecăreia corespunde cu capul 3' al celeilalte. Cele 2 catene sunt antiparalele.

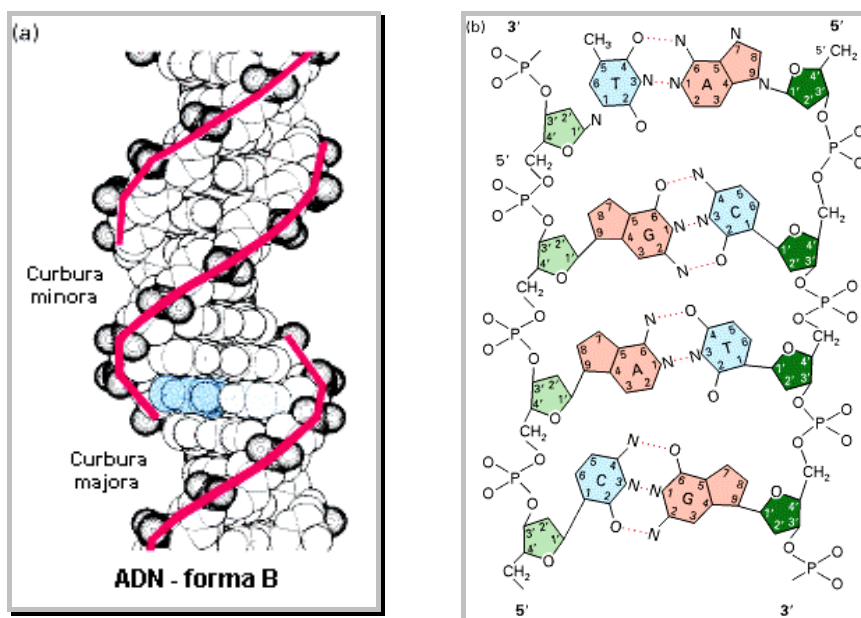


Figura 2.5 Două reprezentări ale dublului helix ADN.

(a) Dublu-helix ADN de formă B. Scheletul glucido-fosforic (în gri și marcat cu linii roșii) se află la exteriorul helixului. Bazele azotate se află la interior. Sunt marcate curbura majoră și cea minoră a helixului. (b) Structura schematică a unui ADN dublu-helix. Cele două schelete glucido-fosforice (în verde închis și deschis) sunt în orientare inversă: $5' - 3'$, față de $3' - 5'$. Bazele azotate de pe cele două catene sunt prezentate în albastru și roșu.

2.4 ADN - "ELICEA VIETHI"

Datorită formei spațiale a nucleotidelor cele 2 catene polinucleotidice dintr-o moleculă d.c. se dispun spațial una față de cealaltă într-o formă de elice (dublu helix), învârtindu-se una în jurul celeilalte și amândouă în jurul unui ax central. Această dispunere formează **structura terțiară** a unei molecule de acid nucleic d.c. În arhitectura unei asemenea molecule, la exterior se găsesc cele 2 schelete glucido-fosforice ale catenelor, iar spre interior sunt bazele azotate.

Perioada modernă a biologiei moleculare a început în 1953, când James Watson, Francis Crick și Maurice Wilkins au propus modelul de structură dublu-helicală a ADN. Toate cercetările ulterioare au demonstrat corectitudinea acestui model (Figurile 2.4 și 2.5).

Un dublu-helix de acid nucleic prezintă o serie de parametri fizici, denumiți parametri helicali (vezi caseta cu parametri helicali).

Parametri helicali

n = numărul de nucleotide per tur de spiră (de elice)

h = distanța dintre perechile de nucleotide adiacente

P = pasul elicei și este distanța traversată de-a lungul axei helixului de un tur complet de spiră (adică de o rotație de 360°).

P poate fi exprimat în raport cu numărul de nucleotide dintr-un tur (n) și cu distanța dintre 2 nucleotide în procesul de rotație (h)

t = unghiul de răsucire sau de rotație a perechile de baze azotate; acestea nu sunt perfect perpendiculare pe axa helixului (sau, altfel spus, două perechi de baze adiacente nu sunt coplanare), ci sunt înclinate cu un unghi de răsucire t care, de obicei, este $34,6^\circ$. Această este de fapt cauza pentru care cele două catene se răsucesc una în jurul celeilalte, formând o structură de dublu-helix.

Valorile acestor parametri pot varia între anumite limite și determină mai multe forme topologice ale moleculei de ADN d.c.

Forma B reprezintă conformația cel mai des întâlnită în celule. Are un diametru de aproximativ 20 Angstrom (\AA), iar distanțele dintre perechile de baze este de aproximativ $3,4 \text{ \AA}$. În această conformație există o medie de 10,4 baze azotate per tur de spiră, iar unghiul de rotație dintre 2 baze adiacente este de $+34,6^\circ$.

Forma A se întâlnește în celule în regiunile dublucatenare ale moleculelor de ARN și în dublu-helixurile hibride ADN – ARN ce se formează în procesele de transcriere genetică. Are un diametru de aproximativ 23 \AA , 11 baze per tur de spiră și un unghi de $+34,7^\circ$.

Forma Z este mai subțire (un diametru de 18 \AA), 12 baze per tur și un unghi de -30° între ele. Datorită acestui lucru, formele A și B sunt denumite "de dreapta", iar forma Z este "de stânga".

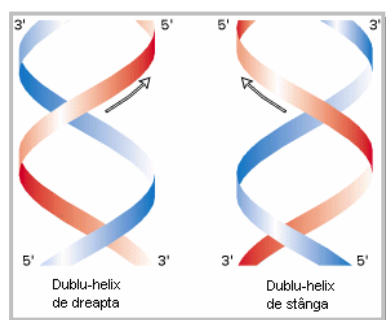


Figura 2.6 Reprezentarea schematică a celor 2 forme principale de ADN d.c.

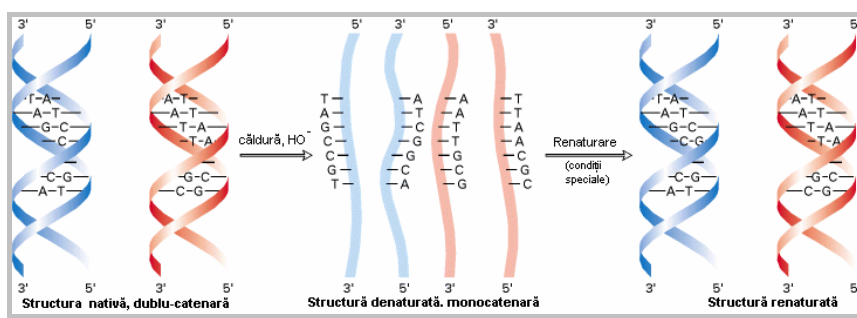


Figura 2.7 Denaturarea și renaturarea moleculelor de ADN dublu-catenare.

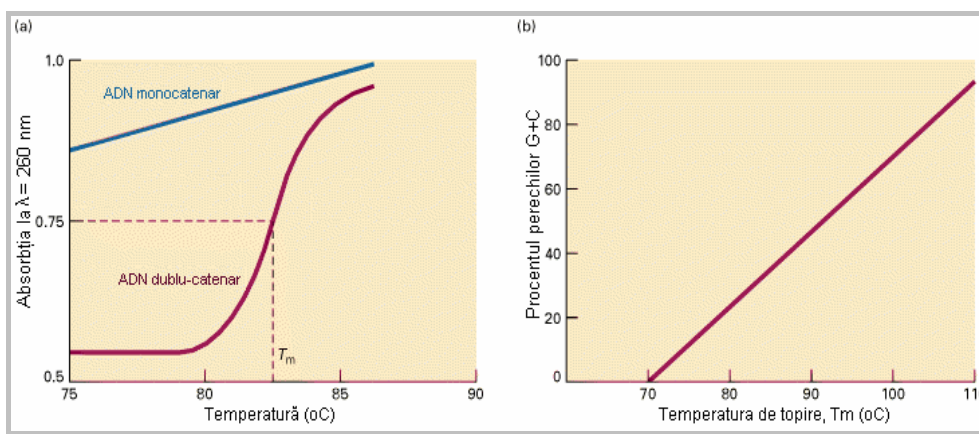


Figura 2.8 Variația absorbției în denaturarea termică a ADN. (a) Denaturarea (“topirea”) moleculelor de ADN d.c. poate fi monitorizată prin variația absorbției în lumină ultravioletă 260 nm: pe măsură ce ADN denaturează, absorbția crește până aproape de dublu. Temperatura la care jumătate din molecule sunt denaturate poartă numele de temperatură de topire (T_m). (b) Valoarea T_m depinde de conținutul în guanină și citozină a moleculelor de ADN d.c.: cu cât procentul molar de guanină – citozină (%molGC) este mai mare, cu atât este mai mare și valoarea T_m .

Moleculele de ADN d.c. pot fi lineare sau circulare (Figurile 2.9 și 2.10).

Astfel, cromozomii la organismele eucariote, dar și o serie de plasmide, sunt alcătuite din molecule de ADN d.c. linear.

Cromozomul bacterian, precum și o serie de plasmide bacteriene, sunt alcătuite din molecule de ADN d.c. circular.

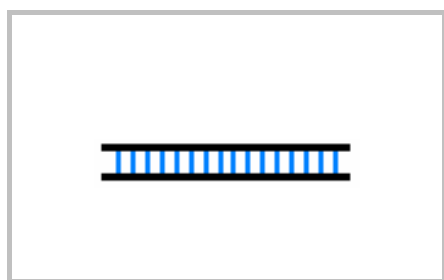


Figura 2.9 Moleculă de ADN d.c. linear.

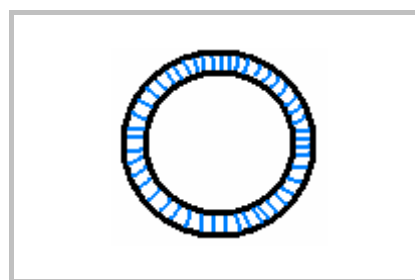


Figura 2.10 Moleculă de ADN d.c. circulară.

2.5 SUPRARASUCIREA MOLECULELOR DE ADN

Moleculele de ADN se găsesc în celule într-o stare de suprarăsucire. Astfel, prin convenție internațională, se numesc **suprarăsuciri negative** cele ce sunt în direcție inversă față de orientarea bazelor din B-ADN. Cu alte cuvinte, o moleculă ADN ce prezintă suprarăsuciri negative, are un grad mai mare de „relaxare”. Suprarăsucirile în aceeași direcție cu cele naturale dintr-o moleculă B-ADN se numesc **suprarăsuciri pozitive** și produc o înfășurare mai mare a moleculei de ADN.

Este important de reținut faptul că gradul de răsucire a moleculelor de ADN influențează esențial o serie de procese celulare:

- în comparație cu cromozomii eucariotelor, cromozomul bacterian este mult mai mic; cu toate acestea, această moleculă de ADN ce reprezintă cromozomul bacterian nu ar încăpea în celula bacteriană dacă nu ar fi suprarăsucit și împachetat

- diverse procese, ca replicare, transcriere, recombinare precum și repararea moleculelor de ADN, presupun derăsucirea locală a moleculelor de ADN

2.6 ACIZII RIBONUCLEICI

Pe de o parte, acizii ribonucleici reprezintă materialul genetic al anumitor tipuri de virusuri (numite virusuri ARN). Pe de altă parte, în celule, moleculele de ARN îndeplinesc diverse funcții metabolice, dintre care cele mai importante sunt legate de traducerea informației genetice din secvență de nucleotide în secvență de aminoacizi, adică în sinteza de proteine.

Din punct de vedere chimic, există trei diferențe majore între acizii ribonucleici și ADN:

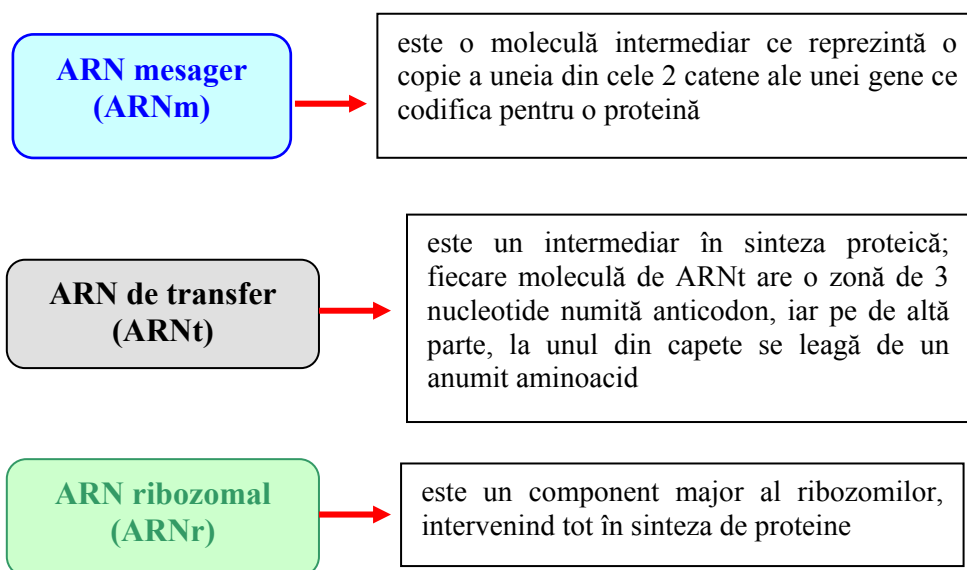
- zaharul din ARN (riboza) conține o grupare hidroxil în plus față de deoxiriboză (prezentă în ADN);

- în majoritatea moleculelor de ARN timina din ADN este înlocuită cu uracil;

- în cele mai multe cazuri, moleculele de ARN sunt formate dintr-o singură catenă polinucleotidică, spre deosebire de majoritatea moleculelor de ADN, care sunt dublu-catenare; chiar și moleculele de ARN monocatenare pot forma structuri secundare și terțiare (Figura 2.11);

- unele molecule de ARN (în mod special, ARNt) mai conțin și o serie de baze azotate modificate, de exemplu pseudouridina, dihidrouridina, riboziltimina, inozina.

Cele mai importante tipuri de acizi ribonucleici dintr-o celulă sunt ARN mesager, ARN de transfer și ARN ribozomal.



Toate moleculele de ARN dintr-o celulă iau naștere printr-un proces numit **transcriere genetică**.

Molecula rezultată poartă numele de **transcript primar** și este ulterior procesată, în funcție de gena care a fost transcrisă, pentru a deveni ARNm, ARNt sau ARNr.

Moleculele de ARN au un rol central în exprimarea genelor. Inițial, aceste molecule au fost descrise ca intermediar în sinteza proteică; ulterior însă, s-a constatat că există multe clase de ARN ce îndeplinesc roluri complexe în diverse etape ale exprimării genelor. Implicarea moleculelor de ARN în foarte multe funcții celulare și, în mod special în expresia genetică, reprezintă unul din argumentele majore în sprijinul teoriei conform căreia, în fazele inițiale ale apariției și evoluției sistemelor biologice, ARN ar fi reprezentat componenta activă în menținerea și expresia informației genetice, și nu moleculele de ADN, care probabil au apărut mult mai târziu; se vorbește deci, de o așa-zisă „*jume ARN*”.

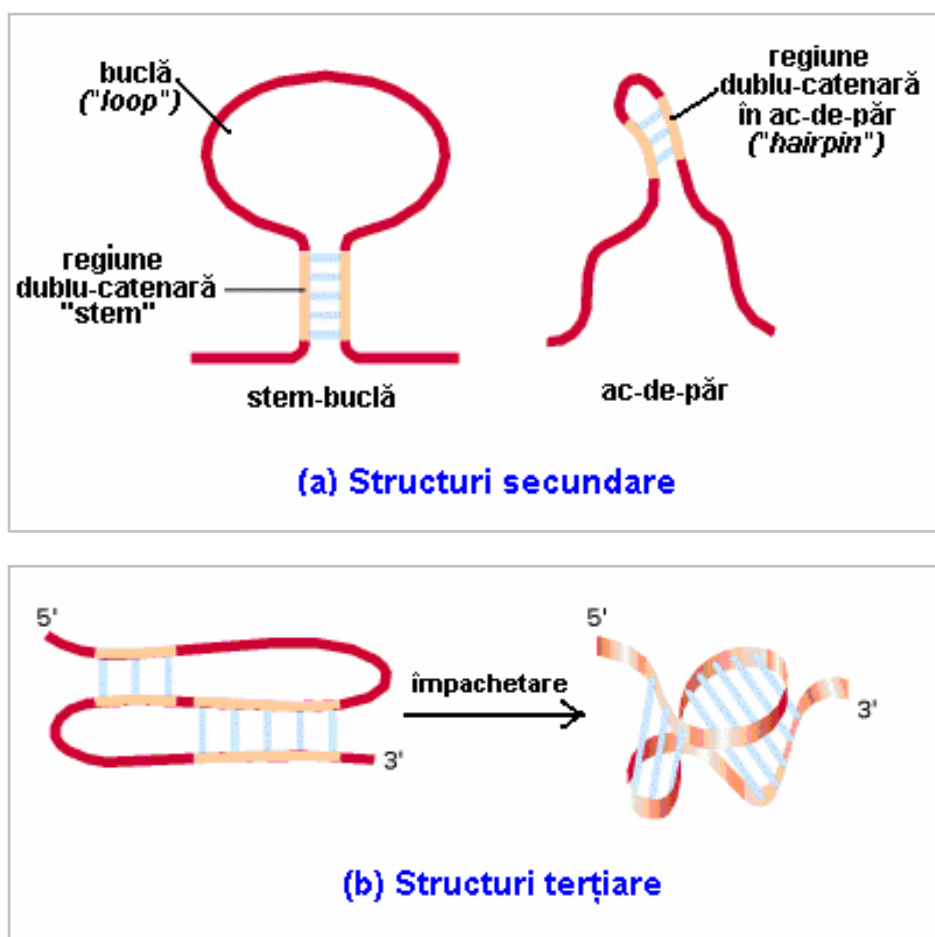


Figura 2.11 Structuri secundare (a) și terțiare (b) în moleculele de ARN; aceste structuri se formează pe baza existenței unor zone cu complementaritate intracatenară.
(dupa Lodish, 2000)