

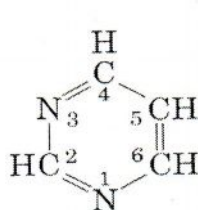
## CAPITOLUL II. ACIZII NUCLEICI

Studiile fundamentale (1868) ale lui F. Mischer au pus temelia chimiei nucleului celular. Dînsul a extras nucleeele celulelor din puroiul tifoanelor chirurgicale utilizate și a demonstrat că în aceste nucleee se află un compus ce conține fosfor, pe care l-a denumit nucleină. S-a constatat că aceasta e o nucleoproteidă. Drept izvor de nucleoproteide servește timusul. Această glandă se utilizează ca materie experimentală pentru toate investigațiile științifice. A fost nevoie de decenii de cercetări, pînă cînd mai multe generații de savanți au stabilit compoziția chimică a acizilor nucleici și componentelor lor de bază.

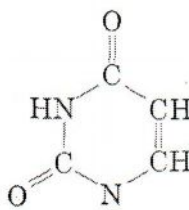
### STRUCTURA CHIMICĂ

Acizii nucleici sunt compuși macromoleculari, degradînd hidrolitic în nucleotide și nucleozide, de altfel ei sunt polinucleotide, compuși dintr-un număr foarte mare de mononucleotide. La hidroliza completă degradează și mononucleotidele, generînd baze azotate (purinice și pirimidinice), pentoze și acid fosforic în cantități echimolare.

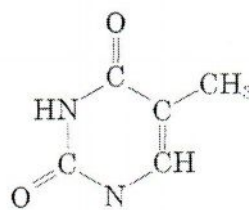
*Bazele azotate pirimidinice* sunt derivați ai pirimidinei, se întîlnesc în acizii nucleici. De notat trei baze majore: *uracilul*, *citozina* și *timina*.



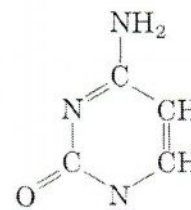
Pirimidina



Uracilul  
2,4-dioxipirimidina

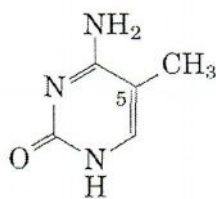


Timina  
5-metil-2,4-dioxi-pirimidina

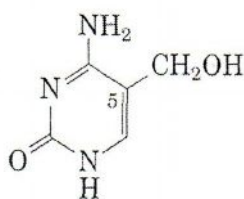


Citozina  
2-oxi-4-amino-pirimidina

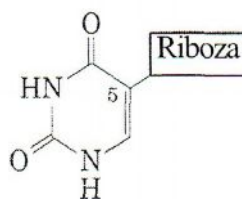
Există și unele *baze minore pirimidinice* ca: *5-metil-citozina* și *5-hidoximetil-citozina*, *metiluridina*, *tiouridina*, *pseudouridina*.



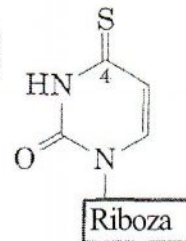
5-metil-citozina



5-hidoximetil-citozina

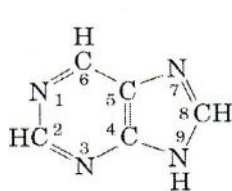


Pseudouridina (ψ)

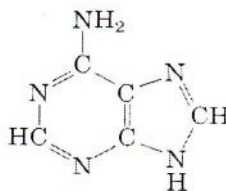


4-tiouridina

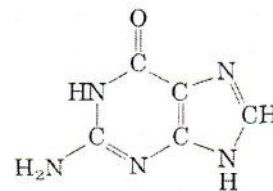
Acizii nucleici conțin și *baze purinice* — *adenină și guanină*. Purina este derivatul pirimidinei: molecula conține inele condensate ale pirimidinei și imidazolului.



Purina

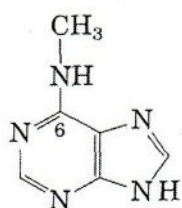


Adenina  
(6-amino-purina)

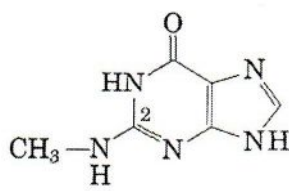


Guanina  
(2-amino-6-oxipurina)

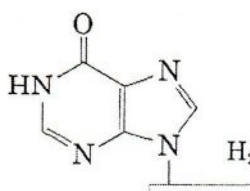
Se întâlnesc în acizii nucleici și *baze purinice minore* ca: *2-metil-adenina, 6-metil-adenina, 1-metil-guanina, 7-metil-guină și inozina*. Bazele minore se conțin în circa 5% și diferă mult de la o specie la alta.



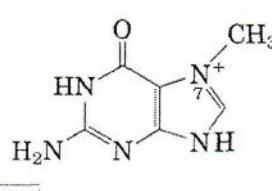
6-metil-adenina



2-metil-guanina



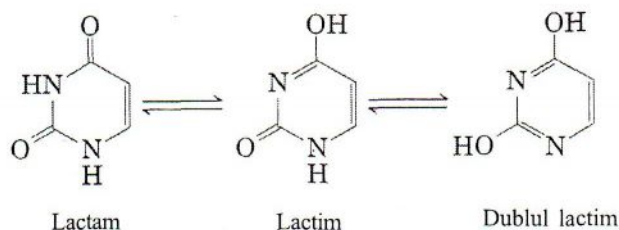
Inozina



7-metil-guanina

### Proprietățile

Bazele azotate prezintă *fenomenul de tautomerie* (structuri ce diferă prin poziția unui atom de hidrogen și a unei duble legături): formele lactim sau lactam, ultimele mai stabile, predomină în structură.



Lactam

Lactim

Dublul lactim

Bazele azotate sunt slab solubile în apă; cele pirimidinice au o structură plană, cele purinice — aproape plană, puțin pliată. Bazele pirimidinice sunt mai stabile decât cele purinice. Bazele azotate posedă maximă capacitate de absorbție de ultraviolet (între 260-280 nm), ceea ce permite determinarea cantității de acizi nucleici (cu atât mai mult ai componentelor- baze, nucleozide). Pentru identificare se utilizează și cromatografia etc.

La o hidroliză menajată nucleotidele degradează în nucleozide și acid fosforic.



Nucleozidul constituie N-nucleozide ale bazelor purinice sau pirimidinice, în care glucidul, pentoza (riboza sau dezoxiriboza) cu atomul său de C<sub>1</sub> formează legătura glicozidică cu N<sub>1</sub> (pirimidina) sau N<sub>9</sub> (purina). Legătura glucozidică în nucleozidele naturale este β. *Pentozele* sunt prezente în forma furanozică, formînd legătura cu hidroxilul semiacetalic.

Distingem ribonucleozide și dezoxiribonucleozide. Nucleozidele sunt mai solubile în apă decît bazele azotate, mai stabile în soluții alcaline și ușor se hidrolizează la încălzire în mediul acid, producînd baze libere și pentoze. În organism nucleozidele sunt hidrolizate de nucleozidaze specifice. Denumirea nucleozidelor derivă de la bazele azotate prin adăugarea sufixelor: *-ozina*, pentru derivații purinici și *-idina*, pentru cei pirimidinici. Adenina și riboza rezultă în *adenozină*, respectiv: *guanozina*; aceiași analogi — cu dezoxiriboza; uridina, citidina, timina, cu dezoxiriboza, se numește *timidină*, iar compusul timinei din tRNA poartă denumirea de *riboziltimină*.

Din punct de vedere steric, nucleozidele pot avea două conformații: *sin* și *anti*. Forma anti este caracteristică compușilor naturali, fiind cerută de așezarea corectă a bazelor complementare în structura dublu helicoidală a DNA. În forma Z conformația *sin* alternează cu *anti*.

Esterii fosforici ai nucleozidelor egalează cu nucleotidele la legăturile C<sub>5</sub> și C<sub>3</sub> ale pentozei. În dezoxiribonucleotide se manifestă numai aceste două poziții, iar ribonucleotidele se completează și cu poziția C<sub>2</sub>. Modificînd condițiile de hidroliză, se pot obține toate tipurile. Celulele în stare liberă cooptează, preponderent în poziția 5', grupa fosfat. Structural, pentoza sau dezoxipentoza ocupă o poziție de legătură între fosfat și baze azotate.

#### Nomenclatorul nucleotidelor și nucleozidelor

BAZELE	Purinice		Pirimidinice		
	Adenina (A)	Guanina (G)	Citozina (C)	Uracilul (U)	Timina (T)
Nucleozidul în: RNA DNA	Adenozina dAdenozina	Guanozina dGuanozina	Citidina dCitidina	Uridina	Timidina
Nucleotidul în: RNA DNA	Adenilat dAdenilat	Guanilat dGuanilat	Citidilat dCitidilat	Uridilat	Timidilat
Nucleozid difosfați	ADP dADP	GDP dGDP	CDP dCDP	UDP	TDP
Nucleozid trifosfați	ATP dATP	GTP dGTP	CTP dCTP	UTP	TTP

Ambele mononucleotide reprezintă acizi deosebit de activi și se află sub formă de 5'-mono, di- sau trifosfați. Grupa fosfat 2 și 3 ușor poate fi hidrolizată de enzime specifice, fără scindarea altor legături.

## Rolul nucleotidelor

1. Element structural al acizilor nucleici.

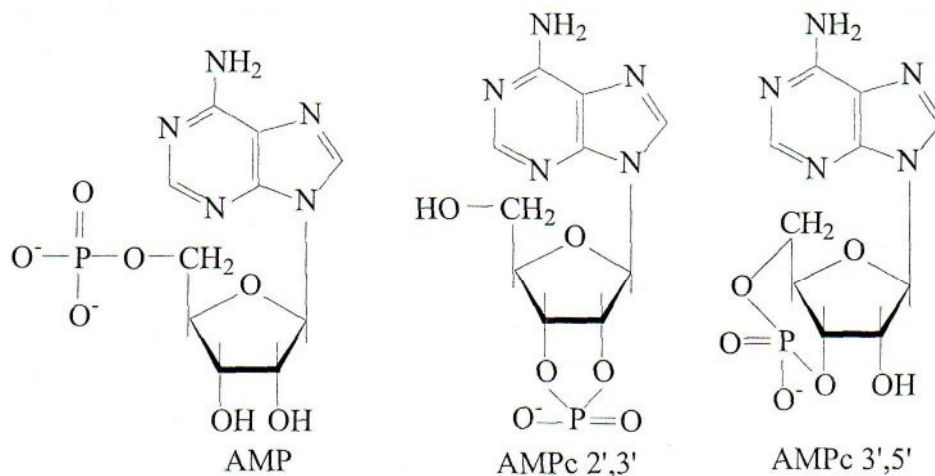
2. ATP — purtătorul energiei chimice în celulă, servește la transferul grupelor fosfat macroergice și prezintă cheia de legătură între procesele ce decurg cu eliminarea, degajarea energiei și între cele ce utilizează energia. ADP și AMP se formează în rezultatul defosforilării ATP, fosforilînd pînă la ATP în procesul respirației tisulare. Ciclul ADP-ATP în celulă constituie sistemul principal de transfer al grupei fosforice.

3. Acizii nucleici iau parte la transferul unor blocuri de construcție (acidul acetic, glucoza, cholina), transformîndu-le în substanțe biologice active — uridindifosfatglucoză, citindifosfatcholina etc.

4. Servesc ca precursori macroergici ai unităților mononucleotidice la sinteza fermentativă a DNA și RNA, cedînd grupa pirofosfat, se transformă în resturi de nucleozidmonofosfat — baza structurală a lanțului polinucleotidic.

5. Unele mononucleotide primordiale conțin și alți compuși - nicotinamida în nicotinamidmononucleotid, precursorul NAD, vit. B<sub>2</sub> în flavinmononucleotid și FAD.

6. În organisme sunt prezente 2 feluri de esteri fosforici ai nucleotidelor (AMP, ADP, ATP), în alte cazuri fosfatul leagă 2 atomi de O<sub>2</sub> ai pentozei în cadrul aceluiași nucleotid, formîndu-se nucleotide ciclice - 2',3' și 3',5'.



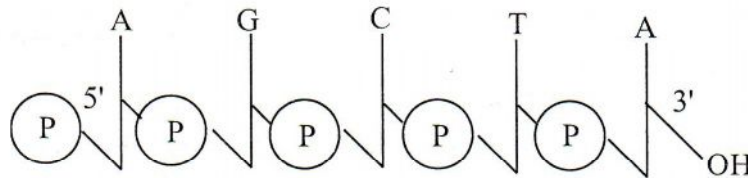
Produsul 2',3' rezultă ca intermediar la degradarea ribonucleotidelor, pe cînd AMPc 3',5' este un ribonucleotid natural, ce posedă proprietăți unice și o activitate biologică deosebită, reglînd metabolismul ca mesager al efectului hormonal.

**DNA. Structura primară.** Polinucleotidele sunt realizate prin stabilirea legăturilor covalente între nucleotidele ce se succed în lanț. Gruparea 3'-hidroxil a unui nucleotid este legată de gruparea 5'-hidroxil a mononucleotidului următor prin legătura fosfodiestică. Atît DNA, cît și RNA au proprietăți comune chimice și fizice — sunt greu solubile în soluții acide, dar ușor se extrag din țesut cu ajutorul soluțiilor de săruri neutre și fenol.



Bazele azotate sunt responsabile de informația genetică, pe când grupele glucidice și fosfatul au o funcție structurală. DNA — conceptul actual structural s-a format prin anii 1950. Moleculele de DNA din celulele tuturor speciilor sunt compuse din 4 mononucleotide dAMP, dGMP, dCMP și TMP, legate într-o secvență variată cu punțile 3',5'-fosfodiesterice. Dar raportul și succesiunea nucleotidelor, greutatea moleculară a DNA din diferite organisme vor fi diferite. Se înregistrează și o cantitate nu prea mare de derivați metilați ai bazelor .

DNA e un polimer cu o catenă extrem de mare — zeci de mii de unități monomere. Lanțul poate fi reprezentat schematic în felul următor: pentru baze servesc simbolurile: A,G,C,T; liniile verticale corespund pentozelor, iar linia diagonală cu simbolul P reprezintă legătura fosfodiesterică — ea leagă capătul unei linii verticale cu mijlocul celeilalte. Locusul legării corespunde 3'-OH și 5'-OH.



Lanțul are o direcție și o polaritate specifică — capetele 5'-OH și 3'-OH care nu sunt angajate într-o legătură internucleotidică. S-a convenit că structura unei catene polinucleotidice va fi indicația strictă de la capătul 5' spre stînga, iar cel 3' — spre dreapta. Direcția 5' → 3'.

Pîna la mijlocul secolului trecut enigma DNA nu era descoperită, pe cînd istoria DNA începe cu F. Mischer. În 1944, O. Colin, C. McLeod și M. McCarty au demonstrat că acizii nucleici de tipul dezoxi sunt factorul determinant în transformările extractului de pneumococi III — formele nevirulente se transformau în virulente, la adăugarea DNA extrase din formele virulente ale pneumococilor. Proprietățile virulente se transmit prin ereditate.

Cu ajutorul izotopilor radioactivi, Alfred Hershey și Martha Chase au demonstrat că informația genetică pentru replicarea virusului T<sub>2</sub> în celulele *Escherichia coli* e transmisă nu de componenta proteică, dar de DNA. S-a constatat că anume DNA este componenta cromozomilor, purtătoarea informației genetice în celulele vii.

Un merit major la descoperirea tainelor structurii DNA îi aparține lui Erwin Chargaff, care, la sfîrșitul anilor 40 al secolului trecut, a ajuns la următoarele concluzii:

1. Preparatele de DNA obținute din țesuturile aceleiași specii de organisme au componența nucleotidică identică.
2. Componența nucleotidică a DNA e diferită la diferite specii.
3. Componența nucleotidică a DNA la aceeași specie nu se modifică cu vîrsta, nu depinde de alimentare și de influența mediului ambiant.
4. Numărul resturilor de adenină în orice DNA, indiferent de specie, este egal cu cel al timinei  $A = T$ ;  $G = C$ . Din acest raport rezultă că  $A + G = T + C$ .

Aceste relații au facilitat înțelegerea codificării informației genetice în DNA și transmiterii de la o generație la alta. *Secvența mononucleotidelor în lanțul polinucleotidic al*

DNA reprezintă structura sa primară, structura covalentă. Această structură e stabilizată de legăturile fosfodiesterice.

**Structura secundară.** În 1953, J.Watson și F.Crick au depistat structura tridimensională a DNA și au propus mecanismul posibil al replicației — un fenomen excepțional în istoria biologiei, ce a deschis calea conceptului funcționării genei la nivel molecular. Ei au analizat tabloul difracției razelor X, efectuate pe cristale de DNA de către R.Franklin și M.Wilkins, au propus modelul structural, care în linii generale e justificat și constă în următoarele caracteristici:

1. Două lanțuri polidezoxiribonucleotidice se răsucesc helicoidal în jurul unei axe comune. Lanțurile au sens opus, sunt antiparalele, formînd o dublă elice cu orientare spre dreapta (fig.2.1).

2. Bazele azotate, hidrofobe sunt orientate spre interior și perpendicular pe axa elicei, inelele glucidice, legate prin resturi fosfat, constituie scheletul extern al dublului helix și sunt orientate aproape sub un unghi drept față de baze. Toate grupările fosfat la pH = 7 sunt ionizate și încărcate negativ (fig. 2.2).

3. Cilindrul ce încadrează dublul helix are un diametru de 20Å, distanța între bazele azotate învecinate e de 3,4 Å, iar poziția uneia față de alta este de 36 grade. Structura se repetă după 10 nucleotide, avînd o perioadă de identitate (pasul) de 34Å (3,4nm) (fig. 2.3.).

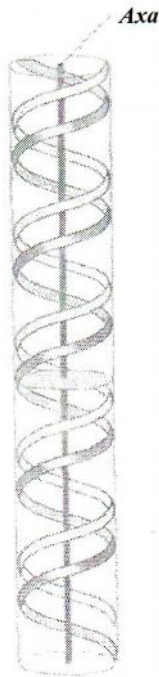


Figura 2.1. Spirala de DNA, potrivit axei spiralei

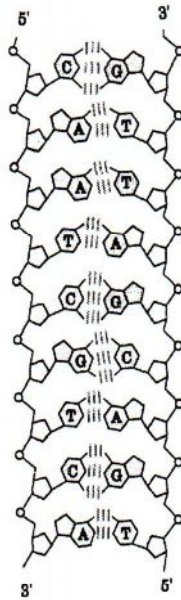


Figura 2.2. Modelul spiralei duble de DNA — bazele ocupă interiorul, iar scheletul glucido-fosforic — exteriorul cilindriului

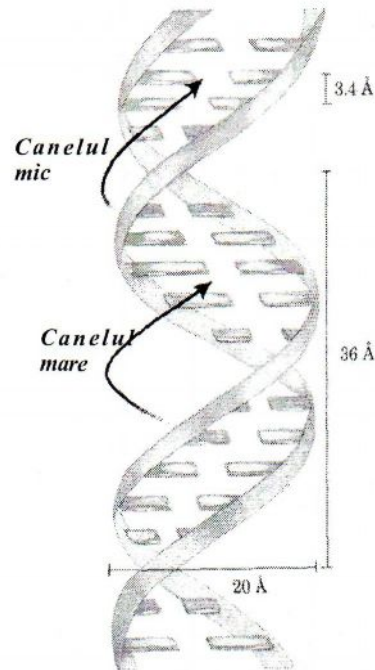


Figura 2.3. Modelul schematic al dublului helix de DNA. Structura se repetă după 36 Å, ce corespunde la 10 resturi în fiecare catenă



4. Stabilitatea dublului helix e asigurată de interacțiunile hidrofobe între bazele azotate, precum și de legăturile de hidrogen ce se stabilesc între bazele azotate de pe o catenă și cele complementare de pe cealaltă. Dublul helix este de tip plectonemical — (adică transversal în același plan), și nu paranemical (adică longitudinal). Legăturile de hidrogen determină primordial împerecherea specifică a bazelor.

5. În secțiune, dublul helix are trei straturi:  
 a) unul intern, cu bazele nucleice;  
 b) unul mijlociu — glucidic — cu planurile dispuse radial;  
 c) altul periferic — resturi de acid fosforic;  
 d) cele două catene delimitează pe suprafața moleculei 2 caneluri: mare și mic (fig. 2.4.).

6. Nu există limitări în succesiunea bazelor azotate din lanțul polinucleotidic; o anumită secvență determină o informație genetică concretă.

*O proprietate primordială a dublului helix e împachetarea specifică a bazelor azotate.*

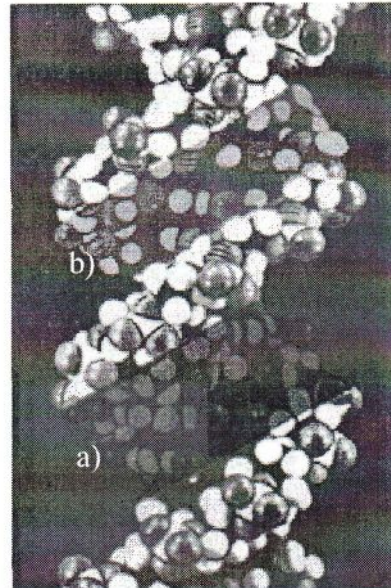
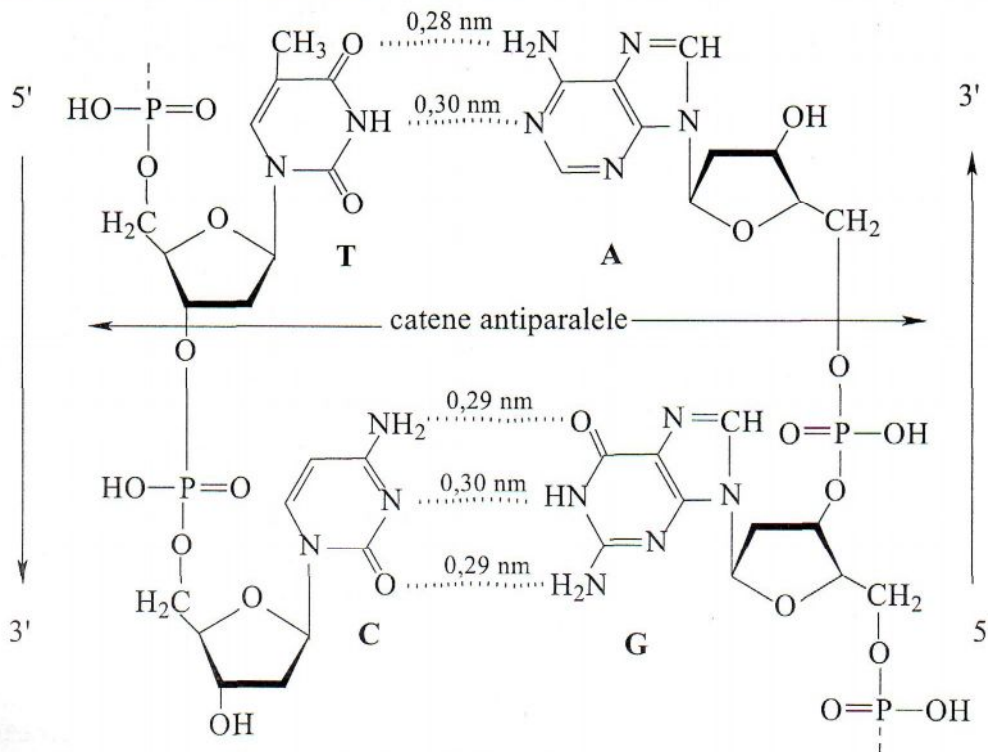


Figura 2.4. Modelul spațial al dublului helix de DNA. Se văd cele 2 caneluri - mare (a) și mic (b)



Structura unui fragment din dublul helix de DNA



Reieșind din limitările sterice și din capacitatea de a forma legătura de hidrogen, se postulează că adenina se împerechează numai cu timina, guanina cu citozina. Acest spațiu poate fi ocupat numai de perechea purin-pirimidinică: pentru 2 purine e mic, pentru 2 pirimidine — e mare și nu pot forma legături de hidrogen. Împachetarea depinde și de regulile de formare a legăturii de hidrogen. Hidrogenul ocupă o anumită poziție în baze. Adenina nu se poate împerechea cu citozina, la fel cum guanina nu se poate împerechea cu timina, fiindcă în locul unei legături s-ar găsi doi atomi de hidrogen, iar în alt loc — nici unul.

Adenina formează cu timina două legături de hidrogen, pe când guanina cu citozina — trei. Orientarea acestor legături și depărtarea dintre ele e optimă pentru o interacțiune puternică între baze.

E de menționat că *cele două catene antiparalele ale dublului helix de DNA nu sunt identice nici după succesiunea bazelor, nici după componența lor. Ele sunt numai complementare una față de alta. Una conține adenina, cealaltă neapărat timina; guaninei îi corespunde citozina.*

Investigațiile efectuate la două Universități din Cambridge au confirmat că s-a sintetizat, cristalizat și descifrat structura a două fragmente de DNA deosebite. În mijlocul lor se află o secvență, în care catena conține multe A, iar cea complementară — T. E curios faptul că această DNA are proprietăți uimitoare — e rezistentă la acțiunea factorilor externi. Care-i cauza? Aceeași  $\alpha$ -elice de dreapta, în care A și T în fiecare pereche sunt dispuse una față de alta aidoma elicelor la elicopter, adică nu sunt în același plan. Efectul este neordinar: 1) e mai îngust canelul spiralei; 2)  $\text{NH}_2$  a A ocupă o poziție de mijloc între  $\text{O}_2$  a două T învecinate, formând legături de hidrogen în plus cu T din lanț — o legătura verticală ce jonctionează longitudinal stivele de baze azotate. Rezultă o rezistență mai mare la factorii nocivi ai mediului. Astfel, legăturile sunt proprii și proteinelor, dar în DNA s-au stabilit pentru prima dată.

În dependență de cantitatea de apă și forța ionică a mediului, configurația dublului helix al DNA se poate modifica. Este elocventă prezența câtorva forme de DNA. *Forma B* — spirala clasică a lui Watson și Crick — conține 10 resturi, ca perioadă de identitate e de dreapta și planul bazelor e perpendicular pe axa spiralei. *Forma A* - pasul — e compus din 11 resturi și planul deviază aproximativ cu 20 grade față de perpendiculară de pe axa spiralei. Se formează la dehidratarea formei beta. Dacă A îndeplinește rolul de matrice în transcripție, apoi B — rolul de matrice la replicarea DNA (ambele sunt în conformația anti). *Forma Z* e răsucită spre stînga, conține 12 resturi la pas (fig. 2.5).

Dublul helix are o rezistență deosebită, concordată cu rolul de purtător al informației genetice. Nu este o structură rigidă, fixată pe toată lungimea ei. Ea este supusă permanent unor deformații interne, ce oscilează de la o parte a moleculei la alta, adică posedă un anumit dinamism. Acestor devieri le e caracteristică dependența de anturajul extern al moleculei de DNA.

**Structura terțiară.** În procesul de izolare a DNA s-a stabilit că în unele segmente dublul helix poate fi împachetat într-o *structură tridimensională* — superhelix sau formă deschisă - inelară, ce presupune integritatea catenei, dar nu formă geometrică.



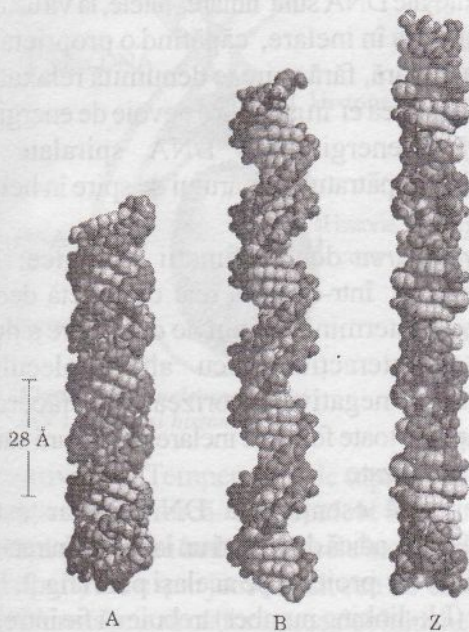


Figura 2.5. Compararea formelor A,B și Z de DNA. Structurile se deosebesc după pasul spiralei și orientarea perechilor de baze față de axă ( $20^{\circ}$ ,  $6^{\circ}$ ,  $7^{\circ}$ ), diametrul (26Å, 20Å, 18Å), distanța dintre bazele azotate învecinate (2,6Å; 3,4Å; 3,7Å)

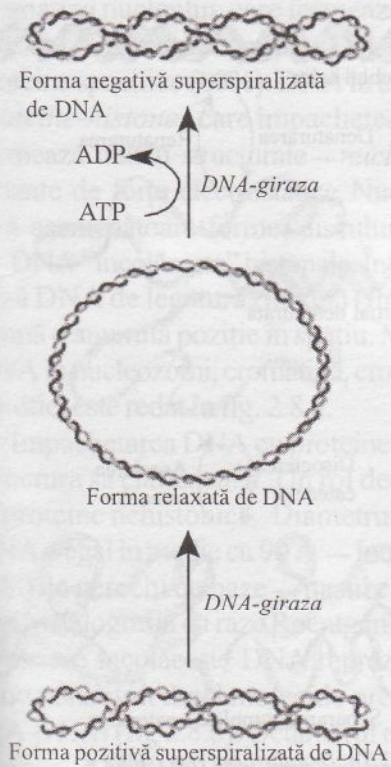


Figura 2.6. Superspiralizarea DNA sub acțiunea DNA-girazei

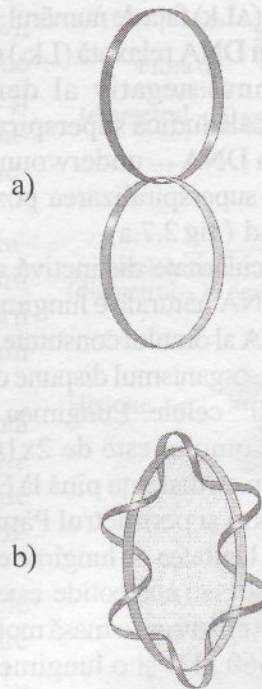


Figura 2.7. Lk număr. În poziția (a) este egal cu 1, iar în (b) = 6

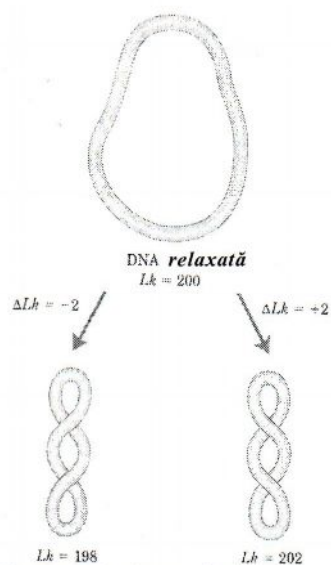


Figura 2.7a. Superspirala negativă și pozitivă

e o caracteristică tipologică și poate varia, dacă într-un lanț sau în ambele se fac rupturi. S-au izolat enzime ce au atare funcție. Densitatea superhelicală ( $\sigma$ ) reprezintă relația dintre diferența numărului de spiralizări ( $\Delta Lk$ ) față de numărul de spire prezente în DNA relaxată ( $Lk_0$ )  $\sigma = \Delta Lk / Lk_0$ . Semnul negativ al densității superhelicale indică superspiralizarea negativă a DNA — underwound, iar  $\sigma$  pozitiv — superspiralizarea pozitivă — overwound (fig 2.7.a)

O particularitate distinctivă a moleculei de DNA naturale e lungimea ei — lanțul DNA al omului constituie aproximativ 2 m; organismul dispune de aproximativ  $10^{13}$  celule. Lungimea tuturor DNA ale omului este de  $2 \times 10^{10}$  km. Comparăm cu distanța pînă la Soare —  $1,44 \times 10^8$  km și perimetrul Pămîntului  $4 \times 10^4$  km. Unitatea de lungime egală cu 1000 perechi sau nucleotide este o kilobază (aproximativ are o masă moleculară egală cu 660 kDa și o lungime de 3,4 mkm).

Încălzind soluția de DNA, adăugînd acid sau bază, putem disocia catenele

Unele molecule ale DNA sunt liniare, altele, la virusuri, se pot transforma în inelare, căpătînd o proprietate nouă. Forma inelară, fără spire, e denumită relaxată. Pentru transformarea ei în spirală e nevoie de energie. Se consideră că energia unei DNA spiralate e proporțională cu pătratul numărului de spire în helix (fig. 2.6).

Superspiralizarea denotă funcții biologice: 1) împachetarea DNA într-o formă mai compactă decît cea relaxată; 2) determină gradul de desfacere a dublului helix și interacțiunea cu alte molecule. Superspiralizarea negativă favorizează desfacerea helixului. Aproape toate formele inelare din natură sunt negativ superspiralizate.

O caracteristică esențială a DNA inelar este numărul de răsuciri, adică de cîte ori un lanț îl va întretăia pe altul, dacă se vor proiecta pe același plan (fig.2.7). Acest număr ( $Lk$ -linking number) trebuie să fie întreg,

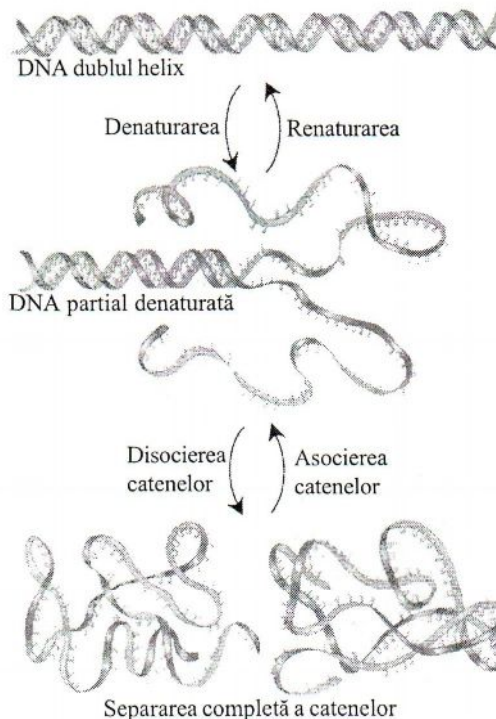


Figura 2.7b. Denaturarea reversibilă și renaturarea DNA



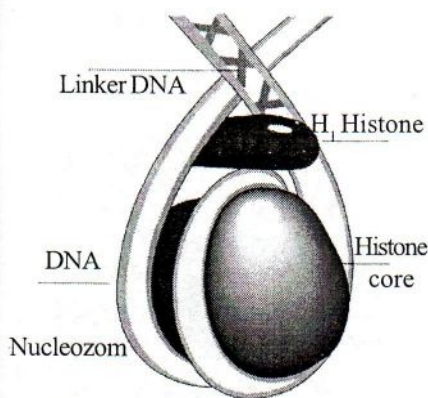


Figura 2.8. Nucleozomul cu DNA linker și histonele  $H_1$

de DNA. La o anumită temperatură are loc procesul de desfacere a dublului helix - *denaturarea lui*. Degradarea unei jumătăți de structură spiralică are loc la temperatura de topire. Dublul helix e o structură cu un grad mare de cooperativitate. Temperatura de topire depinde de componența nucleotidică. Moleculele bogate în C și G au o temperatură mai înaltă decât cele înobilate cu A și T. Dacă temperatura e mai joasă decât cea de topire, lanțurile de DNA reasociază cu formarea dublului helix, producându-se regenerarea — *renaturarea* (fig 2.7.b).

Aproape tot DNA în celula eucariotelor se află în cromatina nucleului, care formează *cromozomi* înaintea mitozei. Cromatina conține DNA (35%), RNA (5%), proteine specifice (60%). DNA în cromatină este legat de *proteine-histone*, care împachetează compact DNA și formează unități structurale — *nucleozomi*. Ele sunt stabilizate de forțe electrostatice. Nucleozomii au o structură asemenătoare formei discului.

DNA “încolăcește” histonele. Între nucleozomi se situează DNA de legătură (linker) (fig. 2.8.). Nucleozomii ocupă o anumită poziție în spațiu. Modelul împachetării DNA în nucleozomi, cromatină, cromatide — cromozomi mitotici este redat în fig. 2.8.a.

Împachetarea DNA cu proteinele în spațiu reprezintă structura sa *cuaternară*. Un rol deosebit îl au *hertonele* — proteine nehistonice. Diametrul unei superspirale de DNA e egal în medie cu 90 Å — într-o spiră sunt localizate 80 de perechi de baze — pasul ei.

Cristalografia cu raze Roentgen a constatat că buclele pe care se încolăcește DNA reprezintă octameri, fiecare fiind constituit din 8 molecule proteice a câte  $2H_4$ ,  $2H_3$ ,  $H_2A$  și  $H_2B$  (fig 2.8.b). Octamerul este înfășurat de DNA (dublul helix) cu lungimea de 146 nucleotide — nucleozomul, ce recent s-a confirmat, cu ajutorul

de DNA. La o anumită temperatură are loc procesul de desfacere a dublului helix - *denaturarea lui*. Degradarea unei jumătăți de structură spiralică are loc la temperatura de topire. Dublul helix e o structură cu un grad mare de cooperativitate. Temperatura de topire depinde de componența nucleotidică. Moleculele bogate în C și G au o temperatură mai înaltă decât cele înobilate cu A și T. Dacă temperatura e mai joasă decât cea de topire, lanțurile de DNA reasociază cu formarea dublului helix, producându-se regenerarea — *renaturarea* (fig 2.7.b).

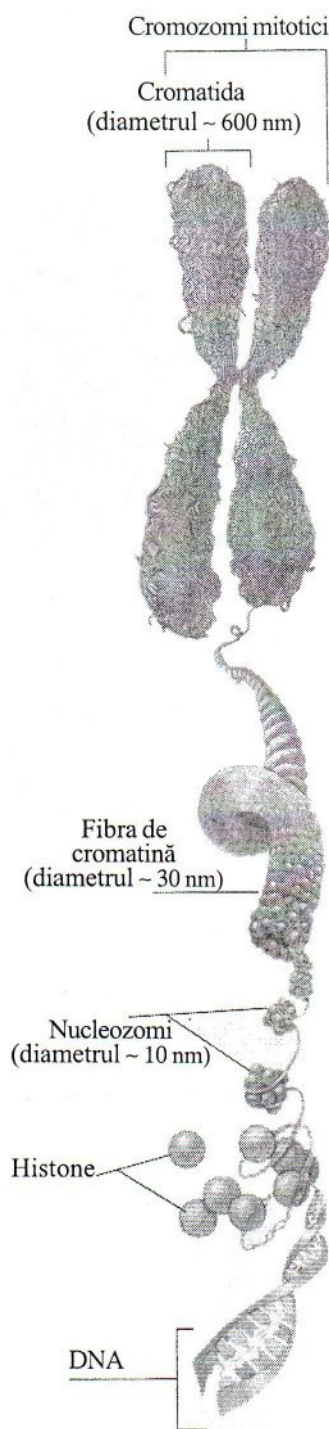


Figura 2.8a. Modelul împachetării DNA în cromozomi

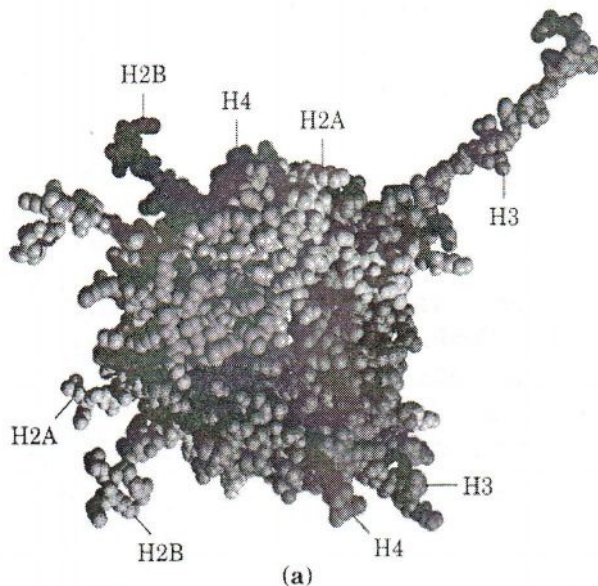


Figura 2.8b. *Reprezentarea spațială a proteinelor în nucleozom*

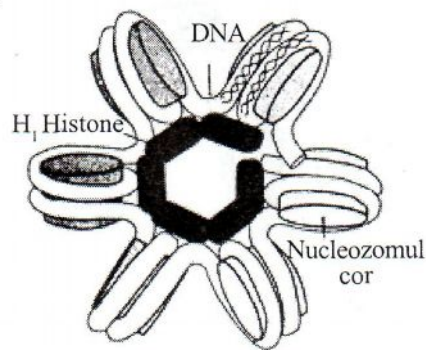


Figura 2.9. *Polinucleozomii constituind un solenoid cu diametrul de 30 nm*

nucleazelor. În cromatina eucariotelor polinucleozomii formează un superhelix, dispunându-se după un solenoid cu un pas de 10 nm și diametrul de 30 nm (fig. 2.9.).

Molecula  $H_1$  de histone este atașată de partea exterioară a catenei de DNA și de ambele capete ale DNA de legătură. S-a stabilit că proteinele ce formează octamerul nucleozomului nu se deosebesc mult la diferite specii — nu există o diferență esențială a succesiunii aminoacizilor, ceea ce confirmă că nu doar împachetarea DNA constituie funcția acestor proteine. În caz contrar, n-ar fi fost nevoie de a păstra timp de milioane de ani consecutivitatea aminoacizilor, fiindcă orice proteină cu un conținut mare de aminoacizi pozitivi, ar determina împachetarea DNA încărcat negativ. În alte capitole vom examina rolul acestor histone în reglarea genelor.



J. Watson



F. Crick



## STRUCTURA RNA

Acizii ribonucleici sunt produși macromoleculari, fiind rezultanți ai policondensării ribonucleotidelor. Nucleotidele se racordează prin fosfat diesteric 3' 5'. Numărul de nucleotide variază de la 75 - la multe mii. Structura covalentă a RNA se deosebește de DNA prin următoarele:

1. Restul de zahăr e riboza, dar nu dezoxiriboza.
2. Una din bazele azotate în RNA e uracilul și nu timina care formează o pereche cu adenina. De rînd cu aceste baze majore, RNA mai conține baze "minore", rezultînd din metilarea, tiolarea celor majore.
3. Molecula de RNA este monocatenară (cu excepția virusilor). De aceea, compoziția nucleotidică nu se supune legii complementare — conținutul de adenină nu e egal cu al uracilului și al guaninei cu citozina, adică structura dublă catenară complementară pentru RNA este exclusă. Se evidențiază însă unele porțiuni, unde complementaritatea bazelor permite organizarea în structuri duble helicoidale. Porțiunile de baze necomplementare sunt expulzate în forme de bucle în afara zonelor de dublu helix. Împachetarea bazelor nu e perfectă, unele dintre ele nefiind complementare. Cota dublului helix în diferite RNA variază mult, atingînd 50%. Cantitatea de RNA, spre deosebire de cea de DNA, variază de la o celulă la alta și chiar în cadrul aceleiași celule, în funcție de intensitatea proceselor metabolice.

Deosebim 3 tipuri de RNA:

*RNA mesager (mRNA)* (informațional, matriceal) — fiecărei gene îi corespunde molecula sa de mRNA, de aceea acest tip de RNA este foarte heterogen. Conceptul de mRNA a fost postulat de F.Jacob și J.Monod în 1961. Studiind reglarea sintezei proteinelor la *E.coli*, au ajuns la concluzia prezenței unui mesager structural de durată scurtă ce transmite mesajul genetic din nucleu în citoplasmă și are următoarea caracteristică:

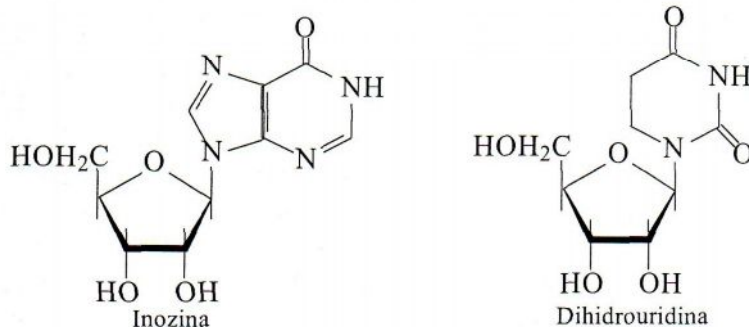
1. acest intermediar trebuie să fie polinucleotid;
2. componența nucleotidică trebuie să corespundă celei din DNA ce o codifică;
3. este foarte heterogen după lungime. Savanții nominalizați au presupus că trei nucleotide codifică un aminoacid și au constatat că masa mesagerului nu e mai mare de 500 kDa;
4. e asociat temporar cu ribozomii — loc de sinteză a proteinelor;
5. se sintetizează și degradează foarte rapid.

Savanții au demonstrat experimental cele argumentate și, ca rezultat, au mai concluzionat: ribozomii sunt structuri nespecializate ce sintetizează în anumit moment cea proteină care este codificată de mRNA și se află în ribozomi.

Folosind metoda hibridizării propusă de Sol Spiegelman (1961), s-a constatat că secvența bazelor în mRNA e complementară secvenței din DNA matriceal.

Lungimea catenei de mRNA e dependentă de lanțul polipeptidic ce implică sintetizarea. mRNA poate să mai conțină secvențe neinformative la capătul 5' terminal de diferită lungime (lider). Dacă mRNA conduce un singur mesaj, e numită *monogenă*, dacă mai multe — *poligenă*. Ea poate conține regiuni intergene netranslabile denumite "linker". Timpul de supraviețuire e variabil (minute - ore). Nucleazele reprezintă enzimele ce degradează acizii nucleici.

*RNA de transfer (tRNA)* reprezintă 10-20% din RNA celular, fiind molecule mici (70-90 nucleotide) cu o masă moleculară de circa 30.000 Da. În structura primară, pe lângă cele 4 nucleotide majore (A,G,C,U), se mai întâlnesc pseudouridina, A,G,C metilate. Pseudouridina (vezi mai sus) -C-1 al ribozei este legată în poziția 5 (C5) a uracilului (nu e legătura N-glicozidică, ci C-C). Sunt prezente dihidrouridina, inozina — nucleozidul ribozei și al hipoxantinei.



Moleculele de tRNA reprezintă o conformație aidoma “foii de trifoi”, unde mai mult de 1/2 din baze sunt complementare. Toate moleculele de tRNA posedă particularități structurale comune, fiindcă toate interacționează în același mod cu mRNA și ribozomii cu enzimele ce catalizează activarea aminoacizilor și formarea legăturilor peptidice (fig. 2.10.).

*Caracteristica tRNA:*

1. Sunt în monocatenare cu un număr mic de ribonucleotide.

2. Conțin baze minore (metilate) — metilarea împiedică împachetarea unor baze capabile de alte interacțiuni, modifică capacitatea hidrofobă a unor segmente de RNA.

3. Posedă 4 zone de perechi complementare și 3 necomplementare, expulzate în formă de bucle:

a) capătul 5' terminal are rest guanilic fosforilat;

b) capătul 3' terminal - secvența nucleotidă CCA. Aminoacidul activat se leagă de 3'-OH al adenozei;

c) la capătul buclei inferioare se află porțiunea anticodon compusă din 7 baze - Pir - Pir - X - Y - Z, purină modificată, bază variabilă. Tripletul (XYZ) e complementar secvenței nucleotidice din mRNA;

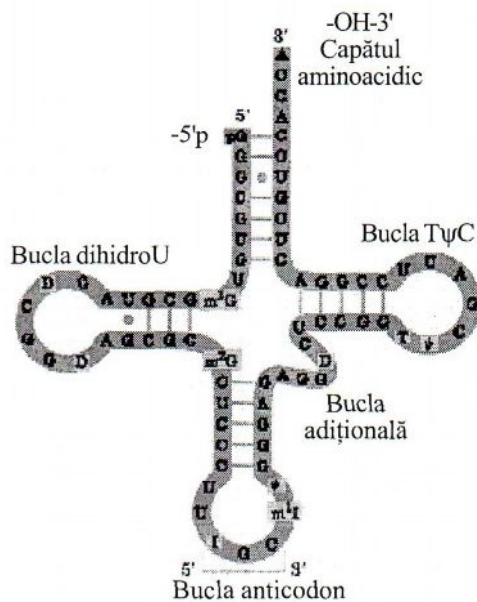


Figura 2.10. Structura tRNA ala cu secvența nucleotidică



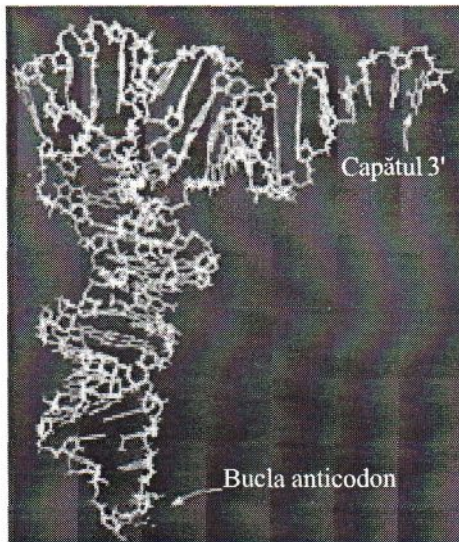


Figura 2.11a. Fotografia structurii tridimensionale a tRNA Phe din drojzii

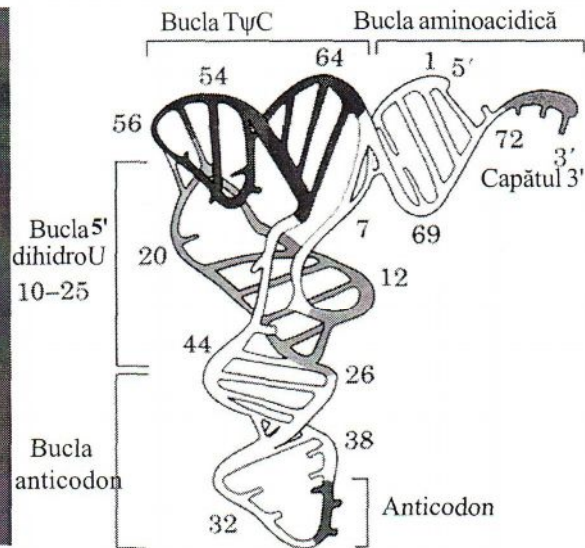


Figura 2.11b. Imaginea schematică a structurii tridimensionale a tRNA Phe din drojzii

d) secvențele normale din bucla TΨC riboziltimidilat asigură legarea în ribozom a complexului AA - tRNA sintetazic cu rRNA;

e) secvența de nucleotide din bucla dihidrouridinică recunoaște o anumită secvență din rRNA ce se leagă cu AA tRNA sintetază.

Studiile cristalografice au stabilit structura tridimensională a tRNA (fig.2.11. a și b).

1. Are forma de L.

2. Molecula include 2 segmente de dublu helix situate perpendicular — fiecare helix are circa 10 perechi de baze.

3. Majoritatea bazelor formează în afara spiralei legături de hidrogen deosebite. Interacțiuni terțiare apar între baze necomplementare (A-A, C-G, A-C). Resturile ribozofosfat pot interacționa cu baze și între ele (2-OH pentoza). Multe baze sunt aranjate în stive. Această interacțiune hidrofobă determină arhitectonica moleculară.

Virusii segregă RNA mono sau bicatenar în molecule native împachetate în membrana proteică (specificitate).

*rRNA (RNA ribozomal)* sunt macromolecule flexibile și deformabile, conțin mai puține baze metilate decât tRNA; zonele duble catenare sunt întrerupte de zone monocatenare, extrem de heterogene după formă și mărime. În funcție de constanta de sedimentare distingem mai multe tipuri. Fiecare tip are structura sa tridimensională. Din totalul de RNA celular rRNA îi revine aproximativ 75%. rRNA se leagă cu diverse proteine, constituind o particulă ribonucleoproteică denumită *ribozom*, care este atașat reticulului endoplasmatic (fig. 2.12).

Ribozomii pot disocia reversibil în 2 subunități 50S și 30S la procariote (A) și 60S-40S la eucariote (B). Subunitatea mare integrează rRNA 23S, 5S și 34 tipuri de proteine L34 (large-mare). Subunitatea mică - rRNA - 16S și 21 proteine S21 (small-mică). La eucariote — respectiv, vezi fig.2.12.

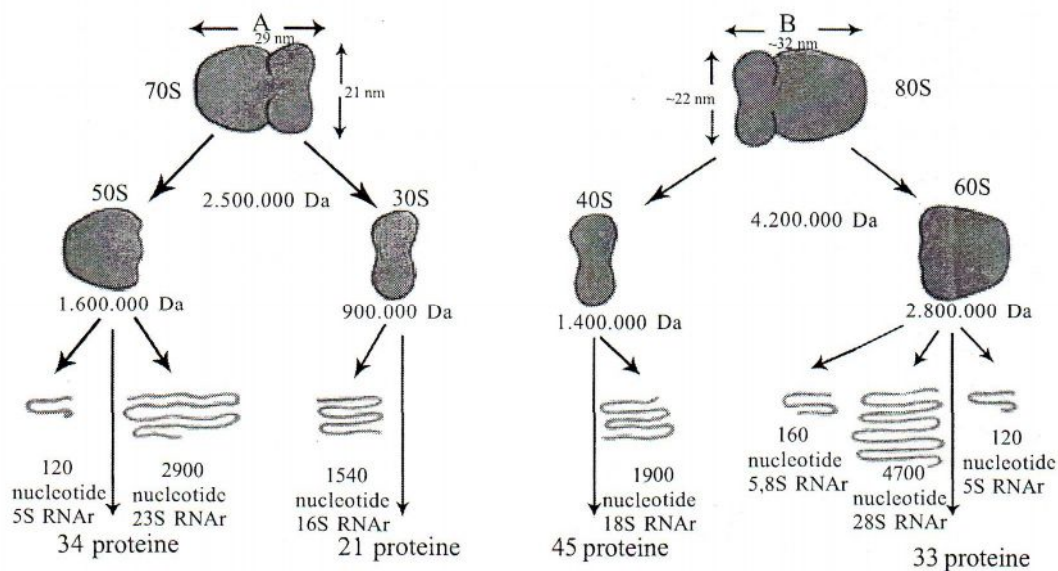


Figura 2.12. Structura ribozomului la procariote (A) și la eucariote (B)

În 1987 a fost elaborată harta situării celor 21 proteine în subunitatea 30S la *E. coli*. Modelul tridimensional al proteinelor e practic canonizat și e inclus în manualele contemporane de biochimie. Utilizarea metodei bombardării cu tritium (planigrafii cu tritium) a permis stabilirea perfectă a proteinelor expuse la suprafața subunității ribozomale și celor din interior. S-a constatat că suprafețele de contact ale subunităților la asociere în ribozomul integru nu au proteină, adică subunitățile interacționează numai cu RNA-ul lor. Studiile mai recente (1996) au confirmat conturul subunității 30 S în corespundere cu ultimele date ale microscopiei crioelectronice, ceea ce a permis corectarea hărții tridimensionale a interpoziției proteinelor în această subunitate.

Pe suprafața fiecărui ribozom se profilează 2 situsuri: situsul aminoacidic (A) și situsul peptidic (P). Experiențele efectuate de Masayasu Nomura, prin metoda asamblării subunității mici, au demonstrat că:

- 1) Toată informația necesară pentru asamblare se conține în componentele ei structurale.
- 2) Pentru asamblare nu sunt necesari factorii neribozomali.