

Nucleotide și Acizi nucleici

Definiție

- Acizii nucleici sunt polimeri ai nucleotidelor și au rol de stocare și transmitere a informației într-un sistem biologic reglabil.
- Aceștia se găsesc în două forme structurale de bază:
 - acidul dezoxiribonucleic (ADN) cu rol primordial de stocare a informației
 - acidul ribonucleic (ARN) cu rol în transmiterea informației genetice.

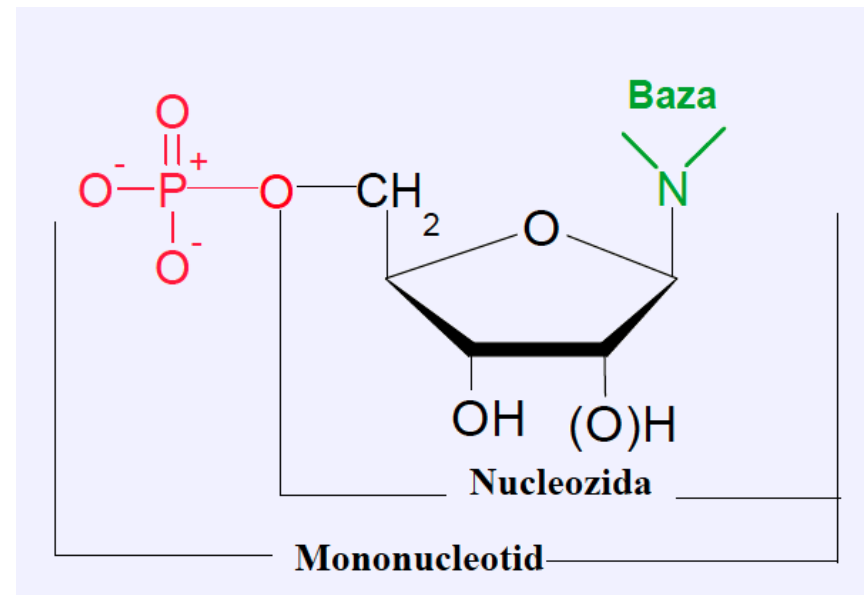
Caracteristici generale

- Unitățile de bază care intră în alcătuirea acizilor nucleici sunt nucleotidele. Acestea servesc pe de o parte la sinteza acizilor nucleici iar pe de altă parte îndeplinesc alte roluri funcționale:
 - **sursă de energie**, prin transferul **grupării fosfat**. Un exemplu îl constituie **ATP** (adenozintrifosfatul – principalul compus macroergic din organism).
 - **mediatori în semnalizarea celulară**. Cel mai important mesager secund este **AMPc** (derivat al AMP cu structură ciclică).
 - structura unor **coenzime importante**: NAD, FAD, FMN, coenzimaA.
 - servesc drept **intermediari metabolici importanți** în transferul unor grupări. De exemplu S-adenozil-metionina (SAM) servește ca donator de grupări metil.

Nucleotide și nucleozide. Structură.

Denumire

- Nucleotidele sunt alcătuite la rândul lor din trei componente:
 - o bază azotată,
 - o pentoză
 - o grupare fosfat



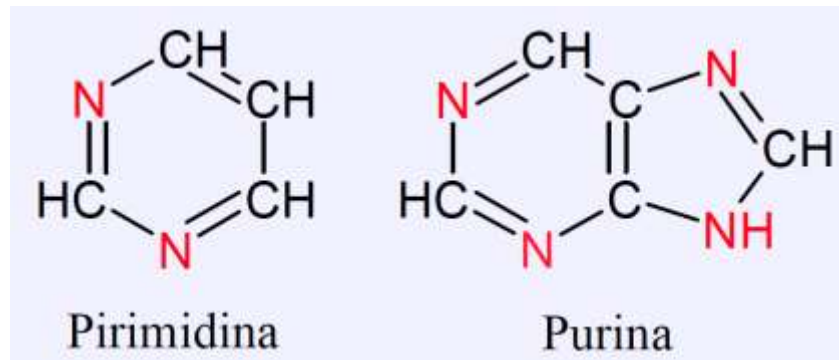
BAZELE AZOTATE DIN ACIZII NUCLEICI

Generalități

- Bazele azotate sub forma necombinată se găsesc în celule doar în urme, provenind de obicei din hidroliza enzimatică a acizilor nucleici și a nucleotidelor.
- Bazele azotate libere sunt aproape insolubile în apă.
- Sunt compuși slab bazici, care pot exista în două sau mai multe forme tautomere, în funcție de pH.
- Timina sau 5-metiluracilul se găsește în ADN, dar de obicei nu și în ARN, iar Uracilul este întâlnit în ARN și foarte rar în ADN.
- În afară de bazele purinice și pirimidinice de mai sus, în acizii nucleici se mai găsesc și așa-zisele baze rare sau minore :
 - *pirimidine*: 5-metil-citozină, 5-hidroximetil-citozină;
 - *purine*: 6-metil-adenină, 2-metil-guanină.
- Detectarea și analiza cantitativă a bazelor libere, are la bază proprietatea acestor baze de a absorbi puternic în UV.
- Bazele azotate se separă ușor prin metode cromatografice și electroforetice.

Bazele azotate

- Bazele azotate care intră în alcătuirea acizilor nucleici au la bază doi compuși heterociclicidiferiți: purina și pirimidina.
- În celulă sunt cinci baze azotate majore, două derivate de la purină:
- adenina și guanina



Bazele azotate



Adenina



Guanina



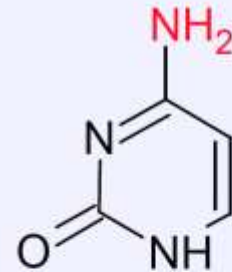
Hipoxantina



Xantina

Bazele azotate

- Celalalte trei sunt derivate de la pirimidina și sunt:
 - citozina
 - timina
 - uracilul



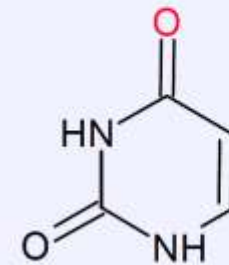
Citozina



5-Hidroximetilcitozina



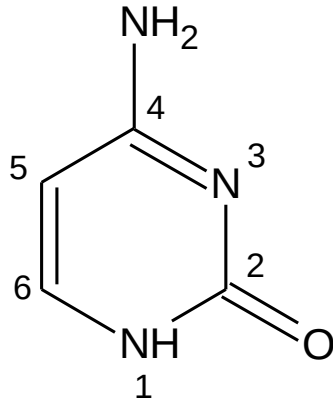
Timina



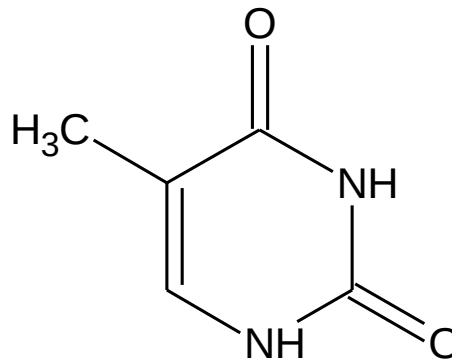
Uracil

Pirimidinele

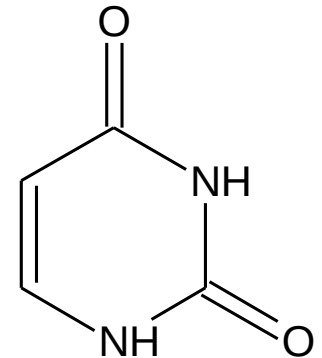
Citozina



Timina



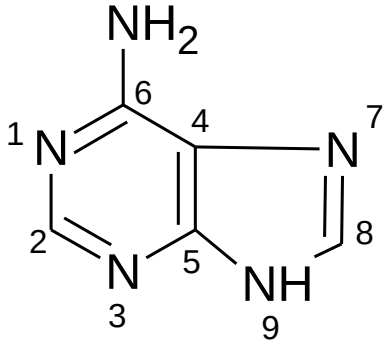
Uracil



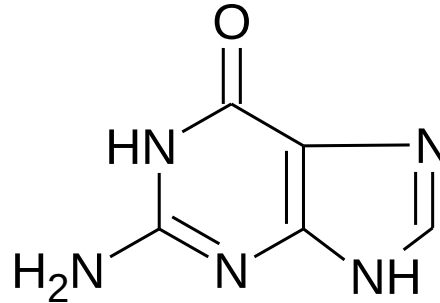
- Nucleul aromatic *pirimidinic* este format din 6 atomi din care 4 de C și 2 de N. Cei doi atomi de N se află în poziția meta (numărul 1 și 3).
- Atomii heterociclului pirimidinic sunt numerotați de la 1 la 6 (astfel încât atomii de N din ciclu să primească indicele minim).

Purine

Adenina

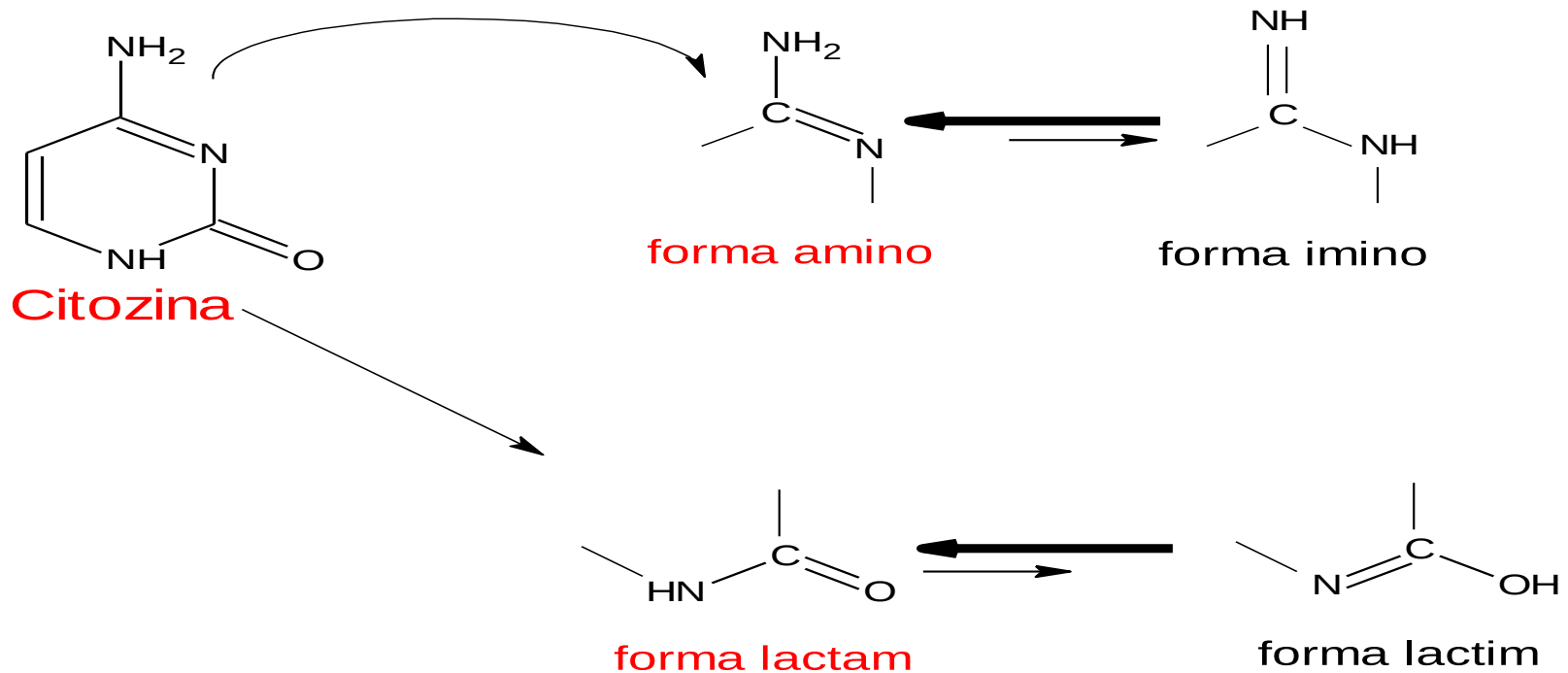


Guanina



- O bază purinică este constituită din *doi nucleii heterociclici alipți, unul de 6 atomi și altul de 5 atomi, având 2 atomi de C în comun (situați la mijloc)*. În raport cu carbonii comuni, *atomii de N ocupă poziții simetrice 1 și 3 la stânga, 7 și 9 la dreapta*
- Atomii heterociclului purinic sunt numerotați de la 1 la 9 (astfel încât atomii de N din ciclu să primească indicele minim).

Bazele azotate prezintă fenomenul de tautomerie



Forma **lactam** este mai stabilă decât forma **lactim**

Forma **amino** este mai stabilă decât forma **imino**

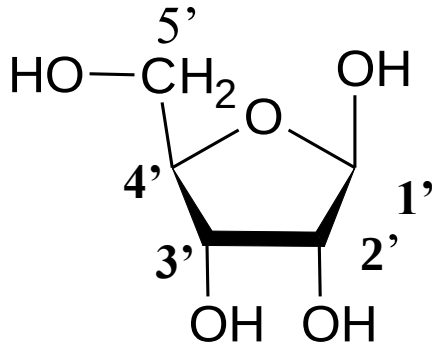
La pH-ul fiziologic predomină forma lactamă

În acizii nucleici există formele **lactam** și **amino**

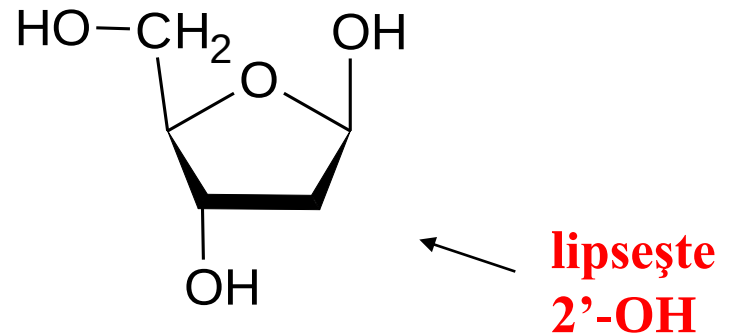
PENTOZELE DIN ACIZII NUCLEICI

Pentoze

Riboza



Dezoxiriboza



- Pentozele din structura acizilor nucleici se găsesc sub formă ciclică, β furanozică.
- Atomii de carbon ai pentozelor sunt numerotați de la 1' la 5' (pentru a se deosebi de cei ai bazelor azotate din structura nucleotidului).
- Pentoza din ADN este dezoxiriboza, căreia îi lipsește gruparea hidroxil din poziția 2'.
- Pentoza din ARN este riboza.

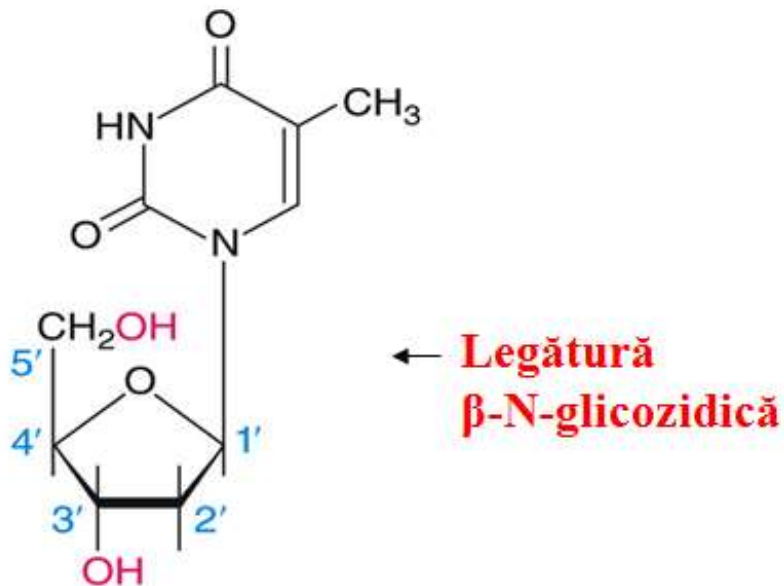
NUCLEOZIDELE

Generalități

- Nucleozidele sunt din punct de vedere chimic glicozilamine, formate dintr-o bază azotată și o riboză sau deoxiriboză.
- Prin fosforilarea lor sub acțiunea kinazei, are loc formarea nucleotidelor, ce stau la baza formării ADN și ARN-ului.
- Nucleozidele sunt mult mai solubile în apă decât bazele purinice corespunzătoare.
- Nucleozidele libere se găsesc doar în urme, ca produși de hidroliză ai nucleotidelor.
- Hidroliza enzimatică a nucleozidelor are loc sub acțiunea nucleozidazelor.
- Identificarea lor se face prin metode cromatografice.

Structura nucleozidelor

bază azotată + pentoză



2' -Deoxythymidine

- Nucleozidele sunt derivați ai bazelor azotate care au o pentoză legată de un atom de azot din heterociclu:

N_9 pentru purine

N_1 pentru pirimidine

printr-o **legătură β -N-glicozidică**.

În funcție de pentoza din structura lor, nucleozidele pot fi împărțite în:

- **ribonucleozide** (cu partea glucidică D-riboză) și
- **dezoxiribonucleozide** (cu partea glucidică 2-dezoxi-D-riboză)

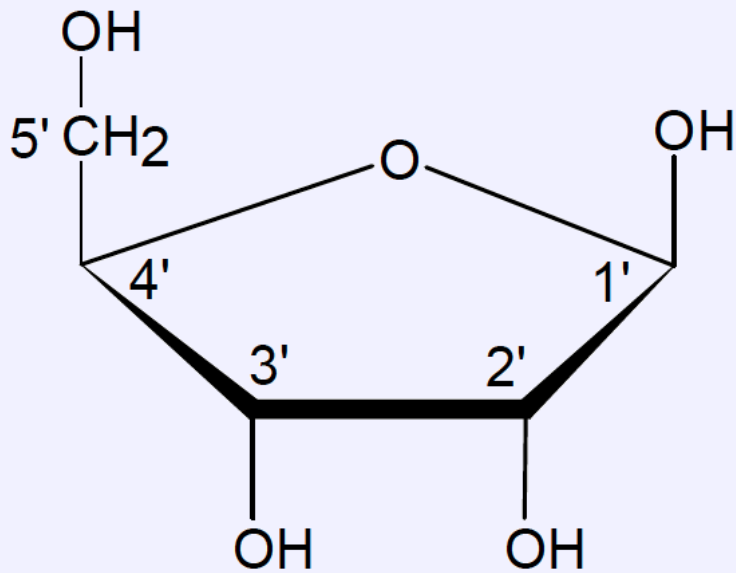
Denumire

- Denumirea nucleozidelor provine de la denumirea bazei azotate la care se adaugă sufixul –**idină** pentru derivații pirimidinici și –**ozină** pentru cei purinici.
Dezoxiribonucleozidele se denumesc adăugând prefixul -dezoxi la numele ribonucleozidului corespunzător.
- În funcție de structura bazei azotate componente se cunosc următoarele nucleozide:
 - Adenozina
 - Guanozina
 - Uridina
 - Citidina
 - Dezoxitimidina

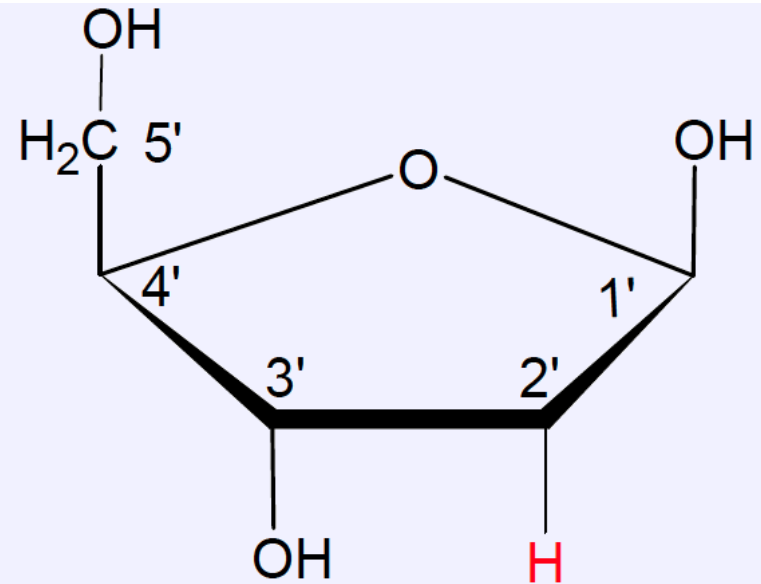
Nucleozide și nucleotide

- Bazele purinice și pirimidinice sunt legate de riboză sau 2-dezoxiriboza printr-o legătură **N-glicozidică** la atomul de azot 1(N1) din structura pirimidinei și la atomul de azot 9 (N9) din structura purinei.
- Compusul rezultat se numește **nucleozid**.

Nucleozide și nucleotide

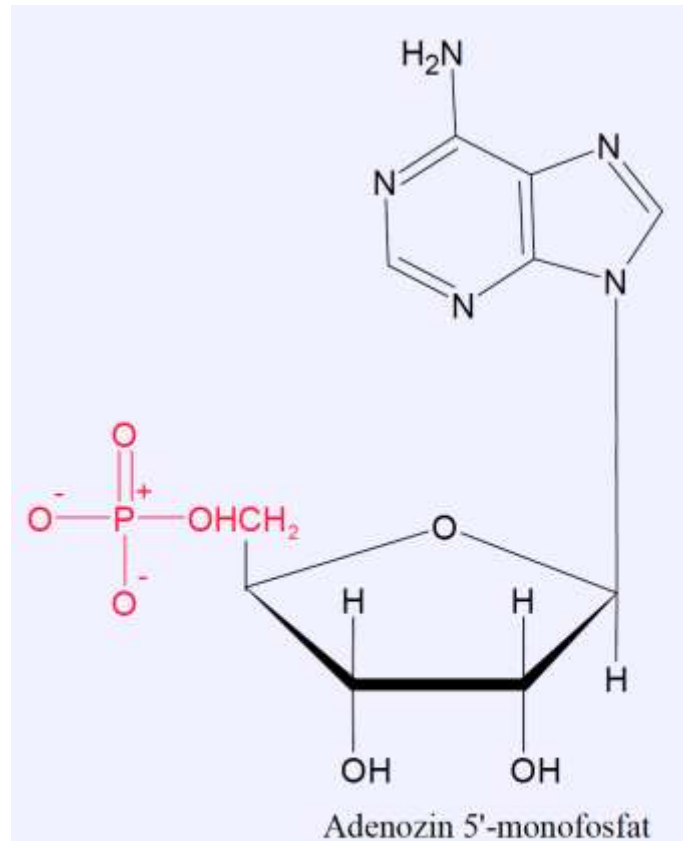
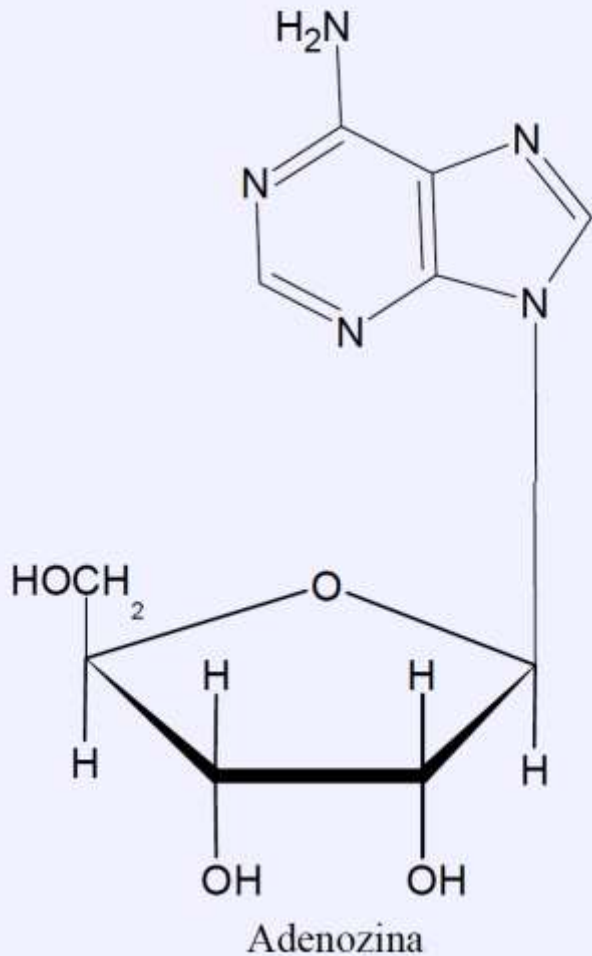


D-Riboza



2-Dezoxi-D-Riboza

Nucleozide și nucleotide



Nucleozide și nucleotide

- Nucleozidele se găsesc în celulă sub **formă fosforilată** compuși sunt numiti *nucleotide*.
- În funcție de numărul grupărilor fosfat conținute în moleculă,
- nucleotidele pot fi *mono-, di-sau trifosforilate*.

Terminologie Ribonucleozide/Ribonucleotide

Baza	Nucleozidul	Nucleotidul
Adenina (A)	Adenozina (A)	Adenozin monofosfat (AMP) sau adenilat Adenozin difosfat (ADP) Adenozin trifosfat (ATP)

Terminologie Ribonucleozide/Ribonucleotide (când pentoza = riboză)

Baza	Nucleozidul	Nucleotidul
Adenina (A)	Adenozina (A)	Adenozin monofosfat (AMP) Adenozin difosfat (ADP) Adenozin trifosfat (ATP)
Guanina (G)	Guanozina (G)	Guanozin monofosfat (GMP) Guanozin difosfat (GDP) Guanozin trifosfat (GTP)
Citozina (C)	Citidina (C)	Citidin monofosfat (CMP) Citidin difosfat (CDP) Citidin trifosfat (CTP)
Uracil (U)	Uridina (U)	Uridin monofosfat (UMP) Uridin difosfat (UDP) Uridin trifosfat (UTP)
Timina (T)	Timidina (T)	Timidin monofosfat (TMP) Timidin difosfat (TDP) Timidin trifosfat (TTP)

Terminologie comparativă

Ribonucleotide	Dezoxiribonucleotide
Adenozin monofosfat (AMP) sau adenilat	Dezoxiadenozin monofosfat (dAMP) sau dezoxiadenilat
Adenozin difosfat (ADP)	Dezoxiadenozin difosfat (dADP)
Adenozin trifosfat	Dezoxiadenozin trifosfat (dATP)

Terminologie **Dezoxiribo**-nucleozide/nucleotide (când pentoza = **dezoxiribo**ză)

Baza	Nucleozidul	Nucleotidul
Adenina (A)	Dezoxi adenozina (A)	Dezoxi adenozin monofosfat (d AMP) Dezoxi adenozin difosfat (d ADP) Dezoxi adenozin trifosfat (d ATP)
Guanina (G)	Dezoxi guanozina (G)	Dezoxi guanozin monofosfat (d GMP) Dezoxi guanozin difosfat (d GDP) Dezoxi guanozin trifosfat (d GTP)
Citozina (C)	Dezoxi citidina (C)	Dezoxi citidin monofosfat (d CMP) Dezoxi citidin difosfat (d CDP) Dezoxi citidin trifosfat (d CTP)
Uracil (U)	Dezoxi uridina (U)	Dezoxi uridin monofosfat (d UMP) Dezoxi uridin difosfat (d UDP) Dezoxi uridin trifosfat (d UTP)
Timina (T)	Dezoxi timidina (T)	Dezoxi timidin monofosfat (d TMP) Dezoxi timidin difosfat (d TDP) Dezoxi timidin trifosfat (d TTP)

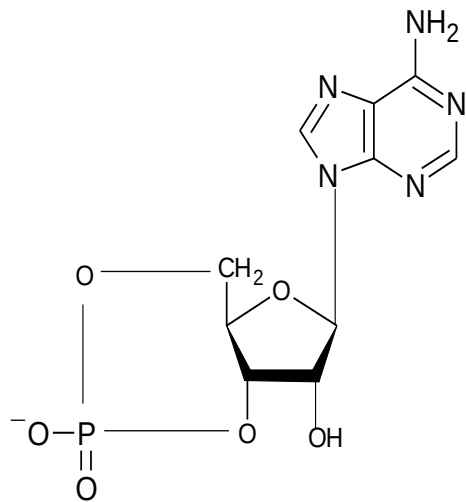
Tabelul 8.1 Nomenclatura nucleozidelor si nucleotidelor

Baza	Nucleozid	Nucleotid	Prescurtare
Adenin	Adenosin	Adenosin-5'-Mono-phosphat (AMP)	A
Guanin	Guanosin	GMP	G
Uracil	Uridin	UMP	U
Thymin	Thymidin	dTMP ^d	T
Cytosin	Cytidin	CMP	C
Hypoxanthin	Inosin	IMP	I
Xanthin	Xanthosin	XMP	X

Funcțiile fiziologice ale nucleotidelor

- Monomeri pentru sinteza acizilor nucleici
- Compuși macroergici care furnizează energia necesară diferitelor procese biologice (ex. ATP, GTP)
- Intră și în constituția unor coenzime cum sunt nicotinamid-dinucleotidele (NAD^+ , $\text{NADH} + \text{H}^+$, NADP^+) sau flavinadenin-dinucleotidele (FAD , FADH_2) implicate în procesele oxidoreducătoare ale respirației celulare
- Donori de grupe metil (ex. S-adenozilmetionina)
- Mesageri intracelulari ai hormonilor hidrofili (ex. AMPc, GMCC)

Nucleotide naturale libere: AMPc



AMPc

Adenine

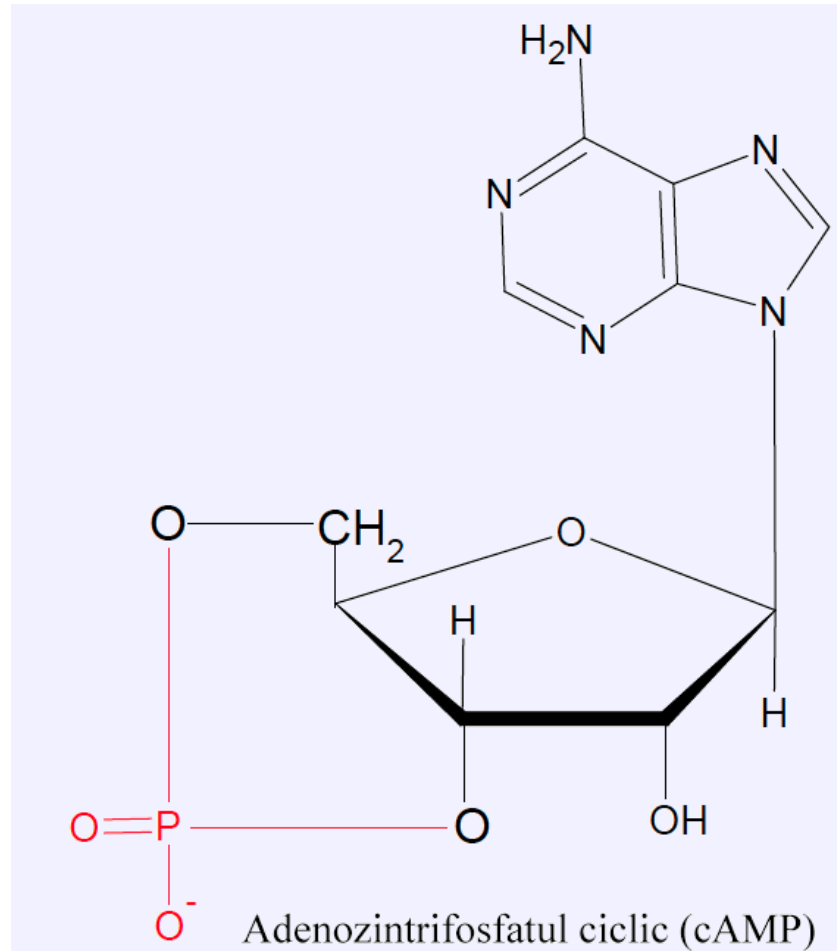
Ribose

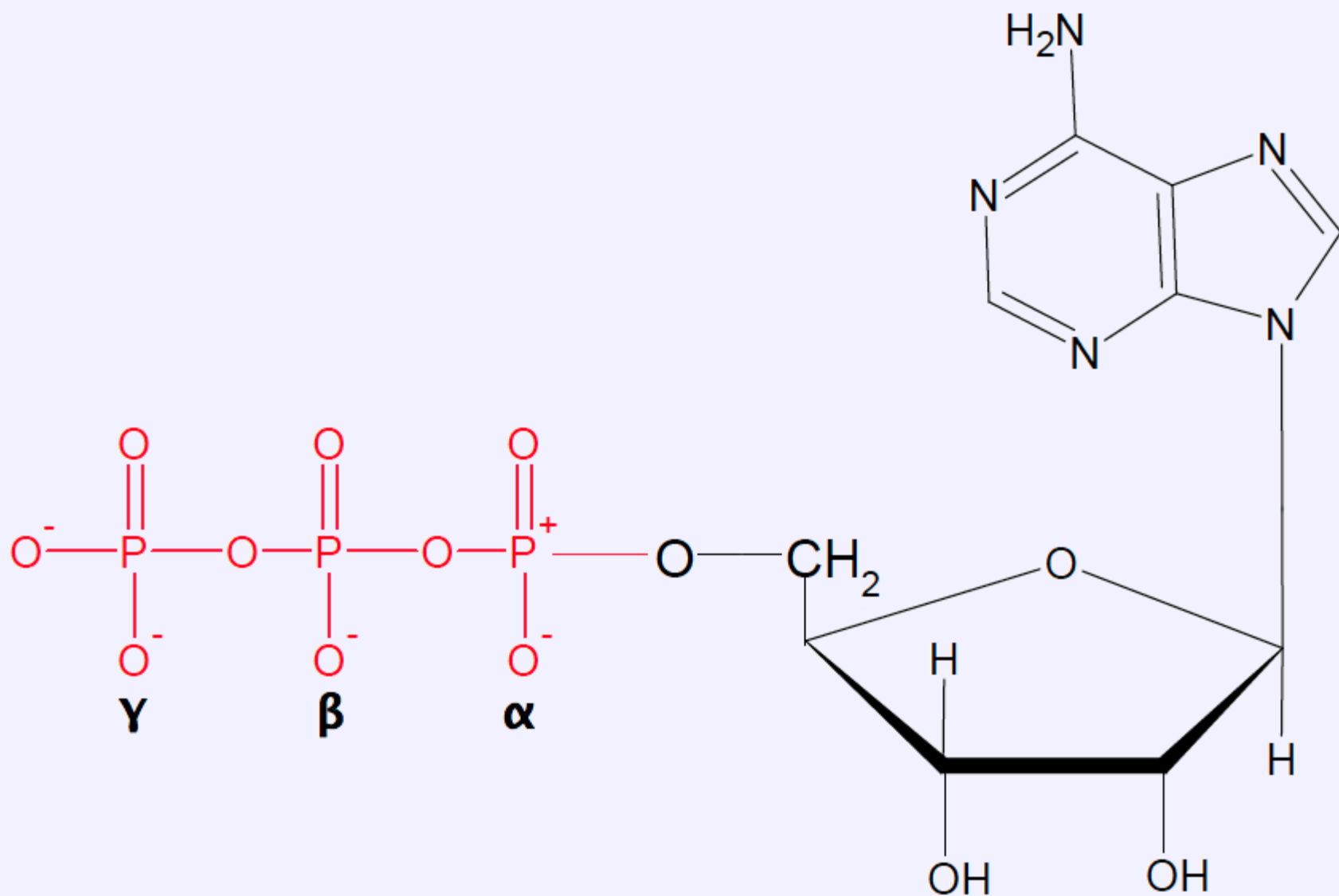
- 3',5'-adenozin monofosfatul ciclic (AMPc) se formează din ATP sub acțiunea adenilat ciclazei, o enzimă din membrana celulară stimulată de anumiți hormoni aduși pe cale sanguină.
- AMPc este mesager secund implicat în transmiterea mesajului hormonal din mediul extracelular în interiorul celulei

Nucleotide libere

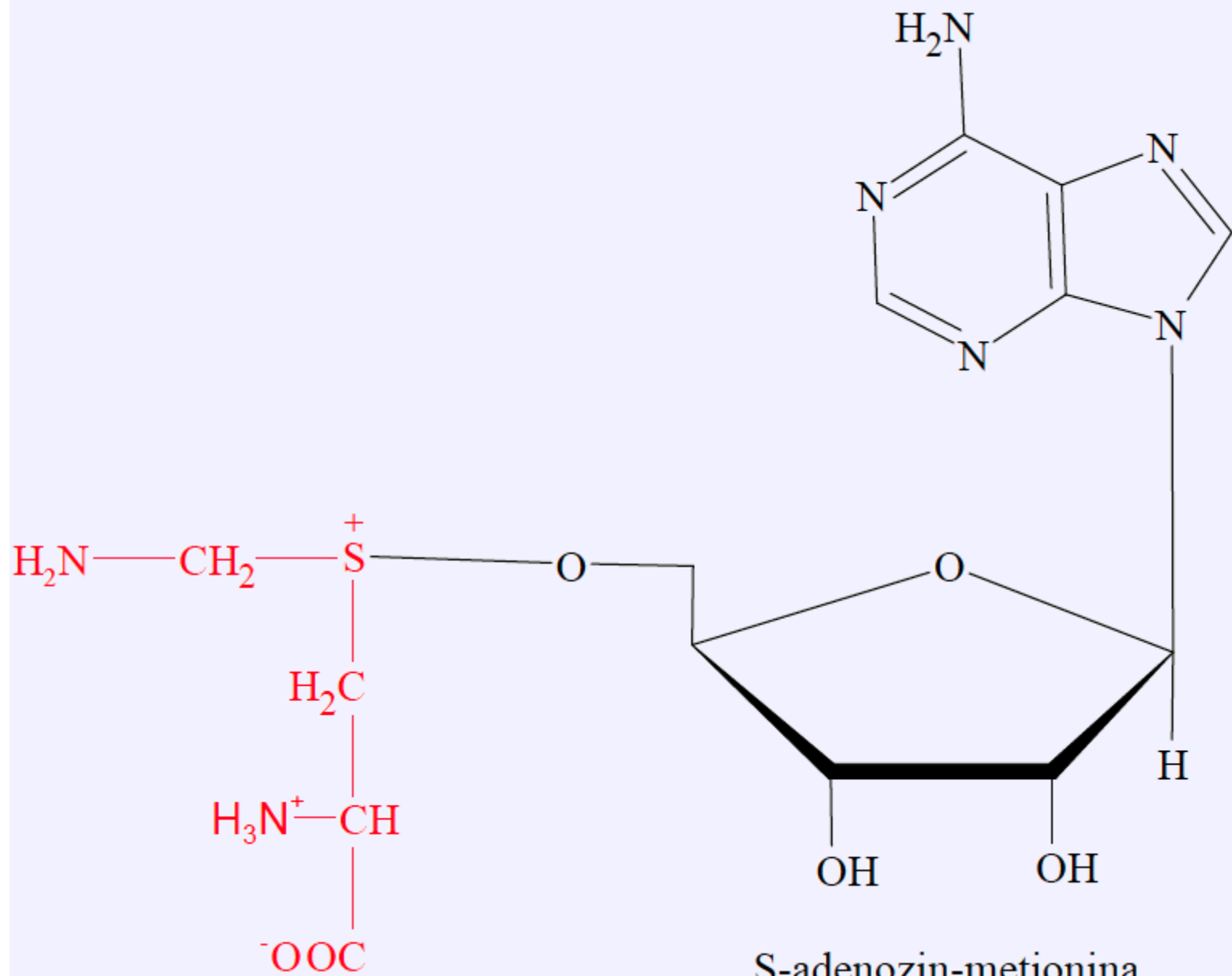
- Astfel, adenozin 3',5'-monofosfatul (AMPciclic) este un compus ciclic derivat de la AMP, ce îndeplinește rolul de mesager secund în transmiterea informației din exteriorul în interiorul celulei.
- Un alt nucleotid cu rol energetic, prin capacitatea de a ceda gruparea fosfat este adenozin-trifosfatul (ATP).
- S-adenozin-metionina îndeplinește rolul de donor de grupări metil în reacțiile de metilare din organism.

Nucleotide libere





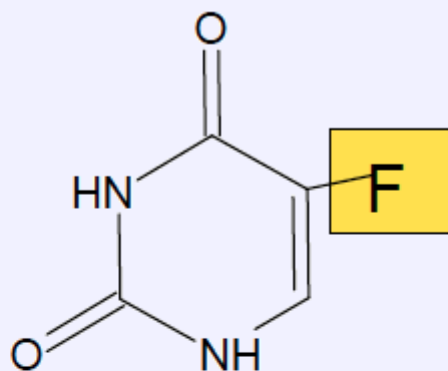
Adenosin-trifosfat (ATP)



Analogi structurali ai bazelor azotate și nucleozidelor utilizate în scop terapeutic

- Ele acționează prin încorporarea în acizii nucleici, blocând sinteza acestora, fie prin inhibarea unor enzime.
 - **5-fluorouracilul** este utilizat în terapia cancerului, deoarece împiedică proliferarea celulelor tumorale.
 - **Allopurinolul**, este un analog al xantinei care inhibă xantinoxidaza, blocând astfel calea de sinteză a acidului uric.

Analogi structurali ai bazelor azotate și nucleozidelor utilizate în scop terapeutic

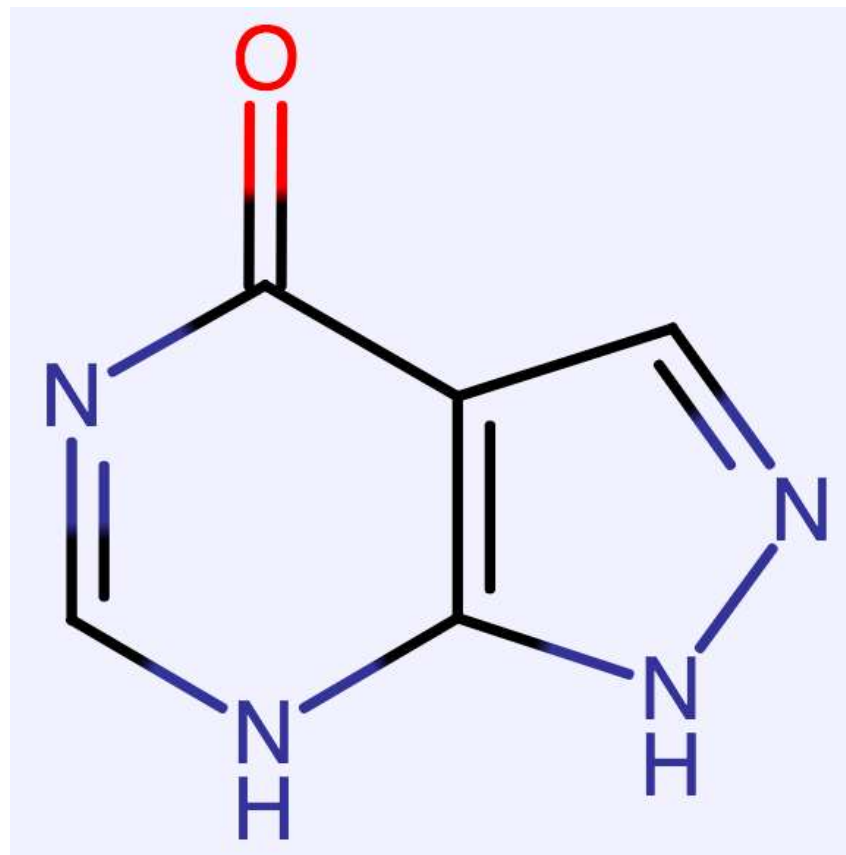


5-Fluorouracil

5-FU $\longrightarrow$ F-dUMP

$\downarrow$
dUMP $\xrightarrow{\text{■}}$ dTMP $\longrightarrow$ dTTP $\longrightarrow$ DNA

Analogi structurali ai bazelor azotate și nucleozidelor utilizate în scop terapeutic

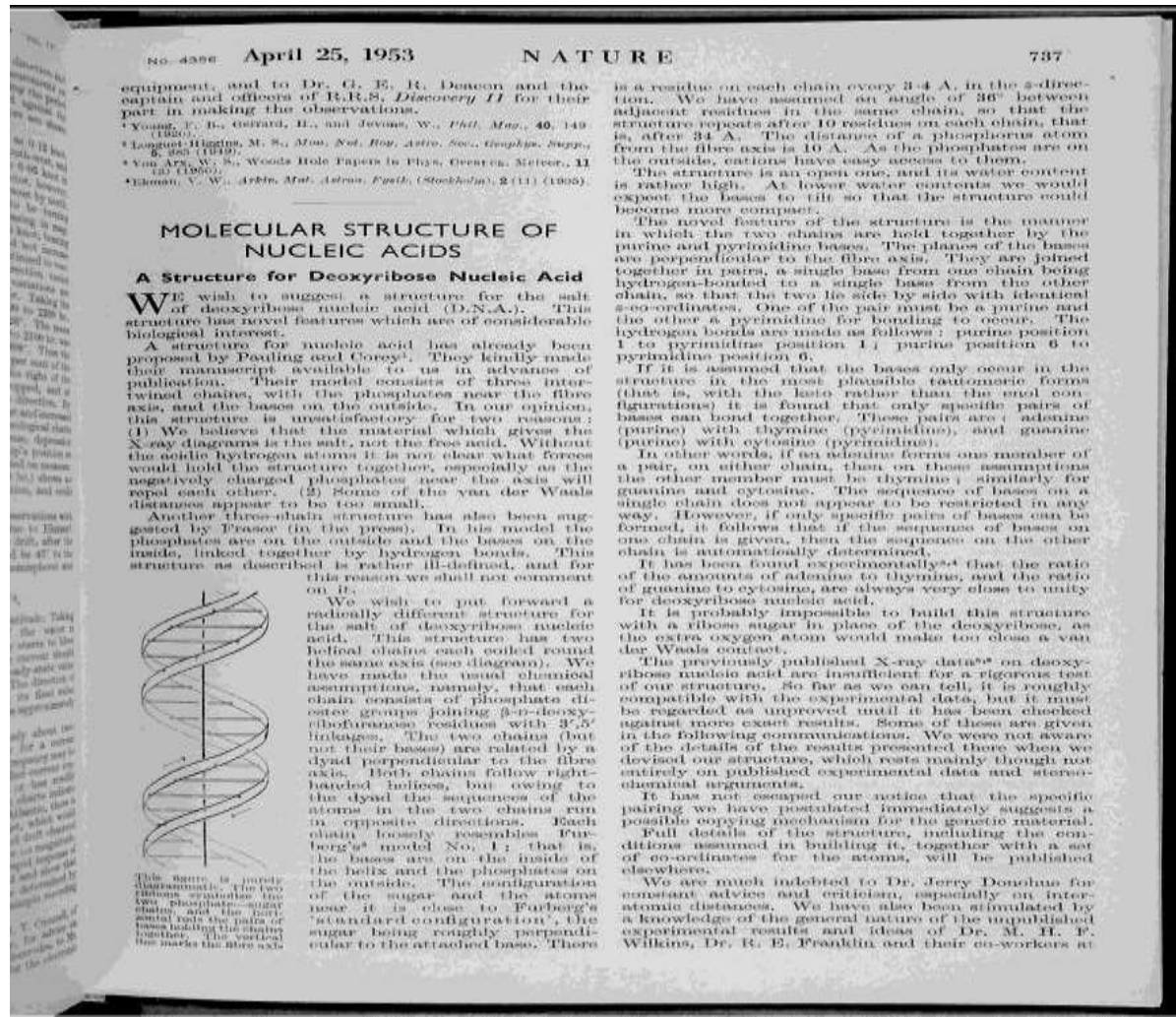


STRUCTURA ADN

- 1. structura primară**
- 2. structura secundară**
- 3. structura terțiară**

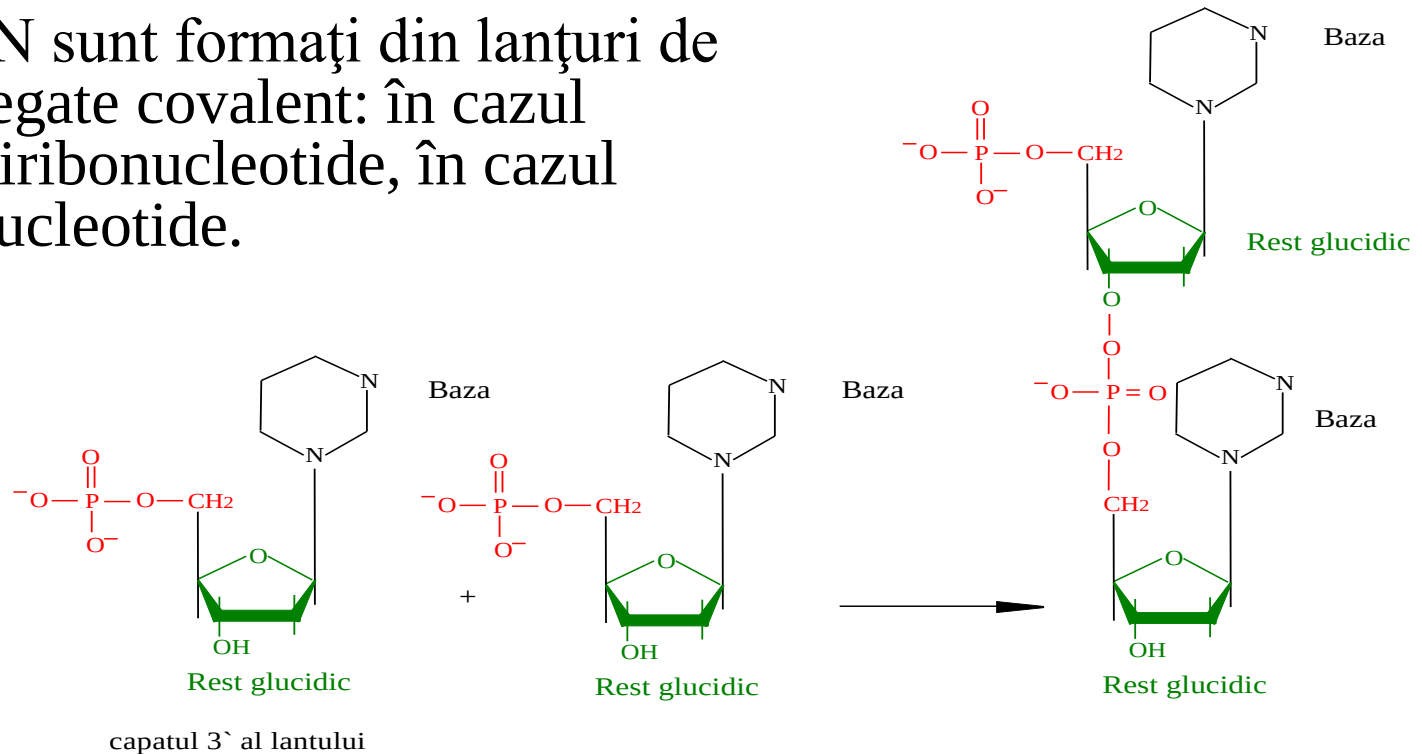
Structura ADN-ului a fost decodificată la începutul anilor 1950. Americanul James D. Watson și britanicul Francis Crick sunt cotați ca fiind cei care au descifrat primii structura de dublă spirală a ADN-ului

James Watson Francis Crick 1962 Nobel Prize



Generalități

AND și ARN sunt formați din lanțuri de nucleotide legate covalent: în cazul ADN-dezoxiribonucleotide, în cazul ARN- ribonucleotide.

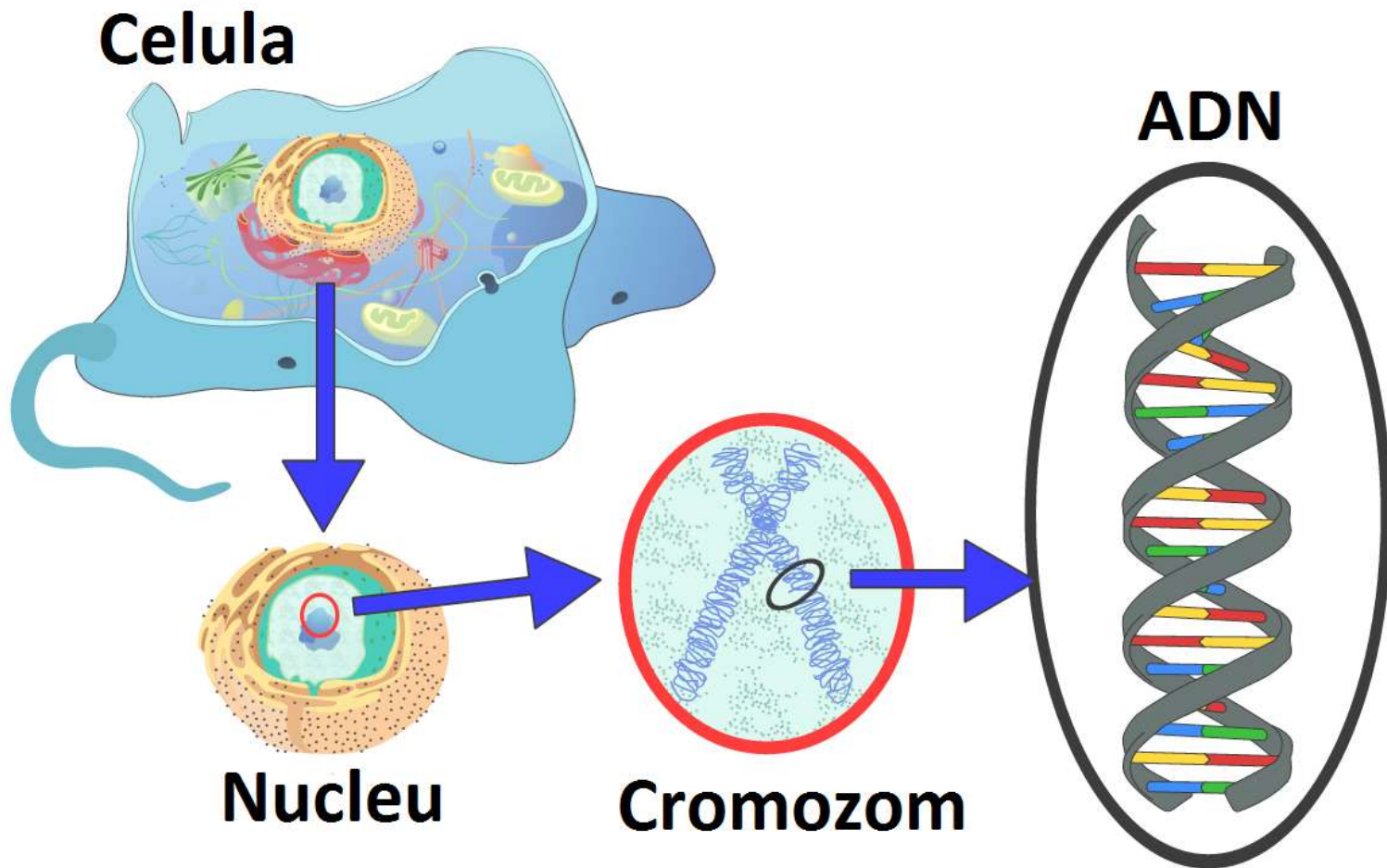


Secvența liniară a nucleotidelor în acizii nucleici este de obicei abreviată ca în exemplul următor, începându -se cu capătul 5' al lanțului (prin convenție), ex : A-G-C-T-T-C-A înseamnă 5' A-G-C-T-T-C-A 3'

Structura și funcțiile ADN

- funcția ADN este aceea de stocare a informației genetice și de control al sintezei proteinelor în celulă.
- Transmiterea informației genetice
- replicarea ADN, în timpul diviziunii celulare (mitoza) în care cele două lanțuri ale ADN sunt separate și nucleotidele libere sunt atașate conform regulii bazelor pereche cu ajutorul ADN polimerazei, rezultând două molecule identice cu cea inițială.

Structura și funcțiile ADN

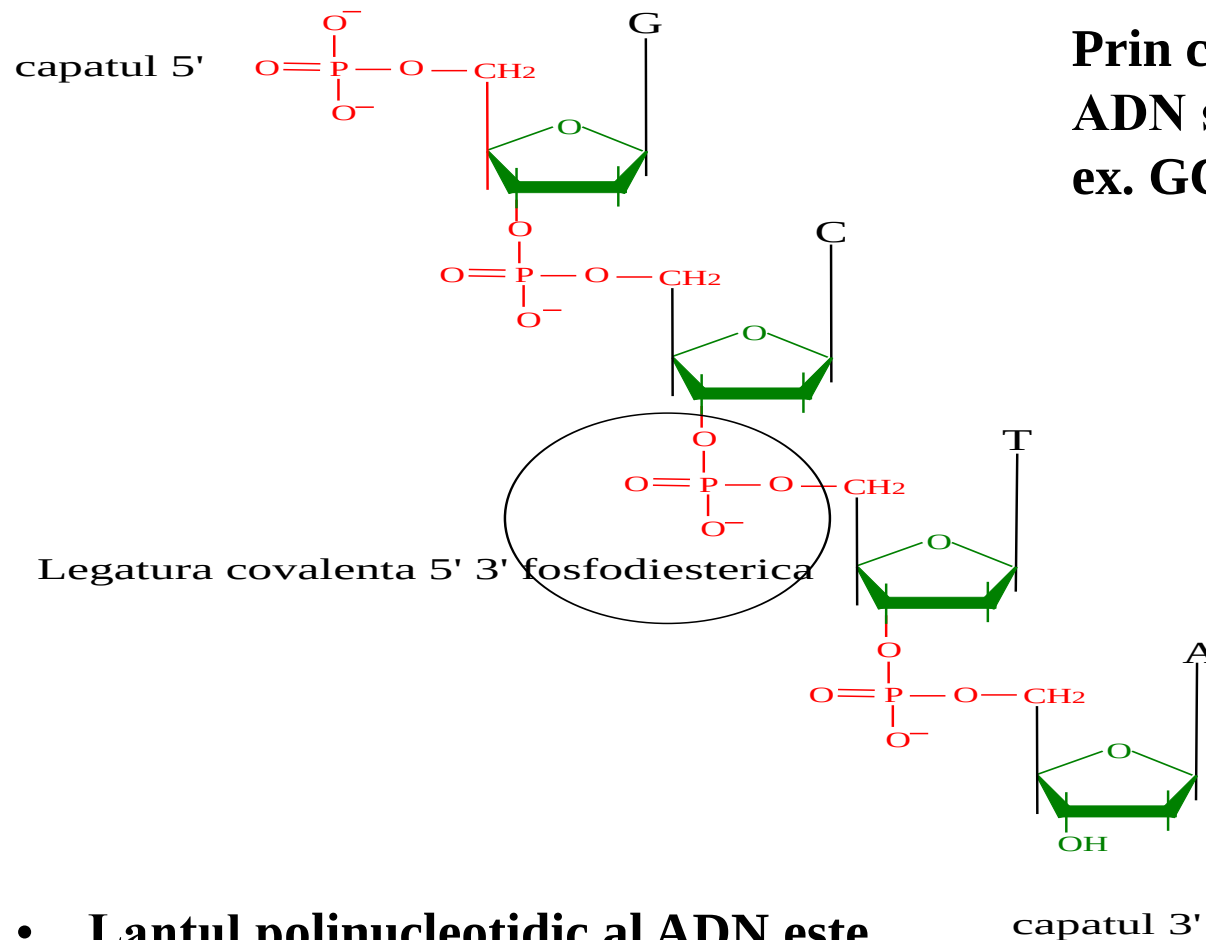


Structura primara a ADN

- structura primară a ADN - secvența nucleotidelor legate prin legătura fosfodiestică fiind înscrisă informația genetică.
- Partea variabilă fiind reprezentată de bazele azotate: adenina (A), timina (T), citozina (C) și guanina (G).
- Fragmentele mai mici de acizi nucleici ce conțin 50 sau mai multe resturi de nucleotide se numesc *oligonucleotide*.

Structura primară/covalentă a ADN

- Structura primară: arată înșiruirea bazelor azotate pe scheletul format din pentoze unite prin punți fosfodiesterice (gruparea 3'OH a unui dezoxiribonucleotid este legată la gruparea 5'OH a dezoxiribonucleotidului vecin printr-o legătură fosfat diesterică)



Prin convenție o catenă de ADN se scrie în direcția 5'-3'.
ex. GCT înseamnă 5'GCT 3'

- Lanțul polinucleotidic este polar, prezentând două capete distincte.
 - Capătul 3' este cel cu gruparea 3'-OH liberă.
 - Capătul 5' este cel cu gruparea 5'-OH liberă sau fosforilată.

- Lanțul polinucleotidic al ADN este încărcat negativ la pH-ul fiziologic.

Structura secundara a ADN

- numărul resturilor de adenina este egal cu cel al timinei și cel al guaninei cu citozina
- ADN-ul este alcătuit din două lanțuri polinucleotidice perechi, antiparalele, legate între ele prin legături de hidrogen formate între baze.
- adenina de pe un lanț formează **două legături de hidrogen** cu timina de pe celalalt lanț iar guanina și citozina sunt legate prin **trei legături de hidrogen**.

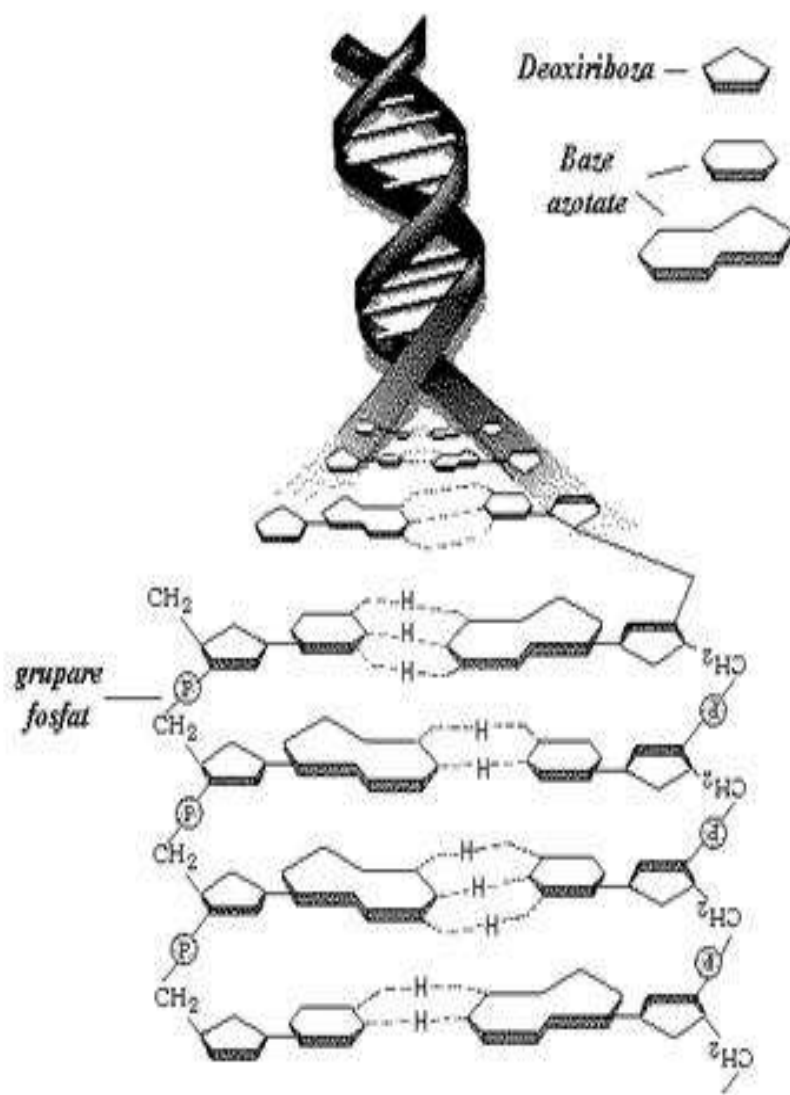
Structura secundara a ADN

- Formarea de legături de hidrogen între bazele A:T și G:C stă la baza înțelegerii modului de replicare și copiere al informației genetice din ADN și se numește complementaritate.
- Cele două lanțuri complementare sunt orientate în direcții opuse: dacă un lanț are orientat carbonul 5` al ribozei deasupra, celălalt lanț va avea capătul 3` orientat deasupra.

Structura secundară-Dublul helix a ADN

- Watson și Crick au decoperit că structura secundară a ADN este un **dublu helix** – formată din două catene de ADN asociate prin împerecherea bazelor
- Structura secundară arată forma de dublă elice stabilizată de punțile de hidrogen dintre bazele azotate complementare
- Inelele glucidice legate prin resturi fosfat constituie scheletul extern al dublu helixului, în timp ce bazele azotate hidrofobe sunt orientate spre interior și perpendicular pe axa helixului.
- ADN-ul uman conține aproximativ $3,5 \times 10^9$ “**perechi de baze**”.

Structura secundară - Dublul helix al ADN



Stabilitatea ADN dublu catenar este asigurată de:

- interacțiunile hidrofobe dintre bazele azotate suprapuse (stivuite) de pe aceeași catenă
- legăturile de hidrogen ce se stabilesc între bazele azotate de pe o catenă și cele complementare de pe cealaltă catenă.

Cele două catene de ADN sunt antiparalele.

G-C are 3 legături de H.

A-T are 2 legături de H.

Cele două catene sunt complementare
G complementară C
A complementară T.

Nr. A = Nr. T

Nr. G = Nr. C

Dublu helix ADN (structura secundară)

Există mai multe confomații ale ADN

Conformația B:

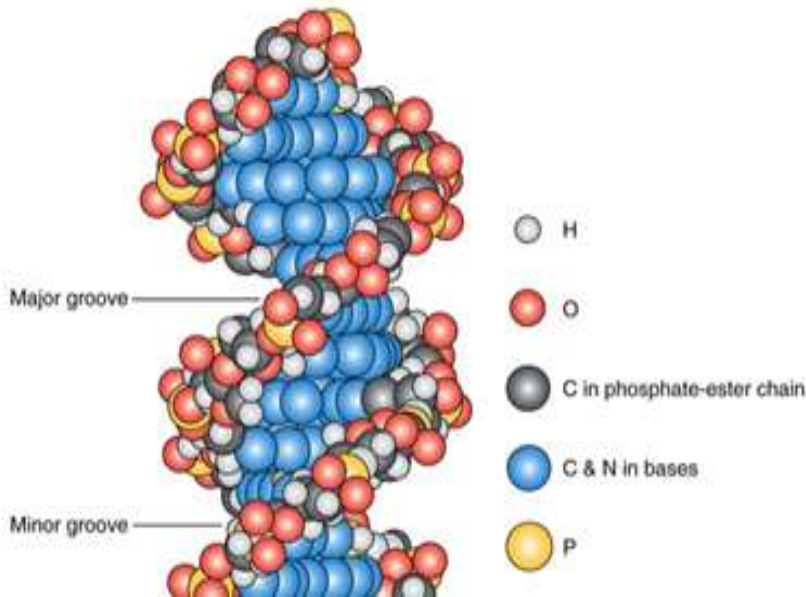
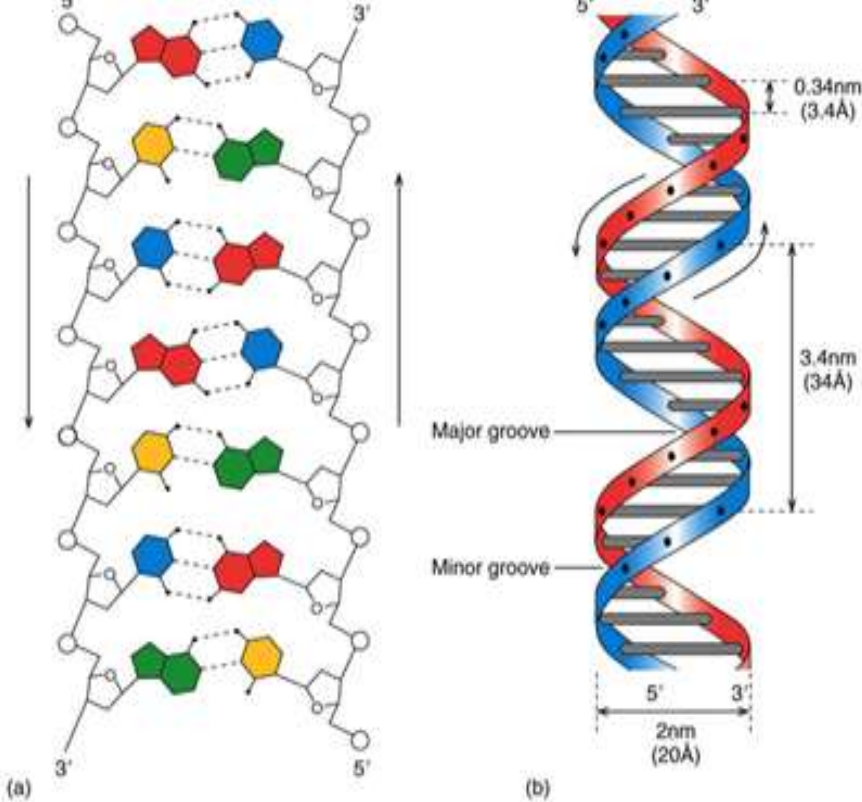
- descrisă de Watson și Crick
- orientare dreaptă,
- pasul dublu helixului este 3,4 nm,
- diametrul de 2nm
- nr. perechi baze per tur este 10
- cea mai răspândită.

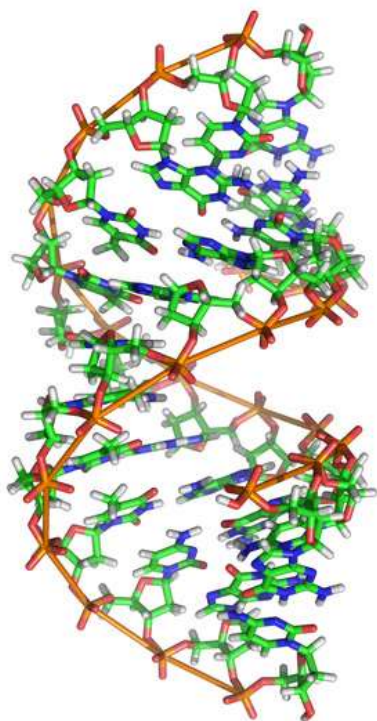
Conformația A:

- dublu helix de dreapta
- pasul elicei este de 2,8 nm (mai compact)
- nr. perechi baze per tur este 11.

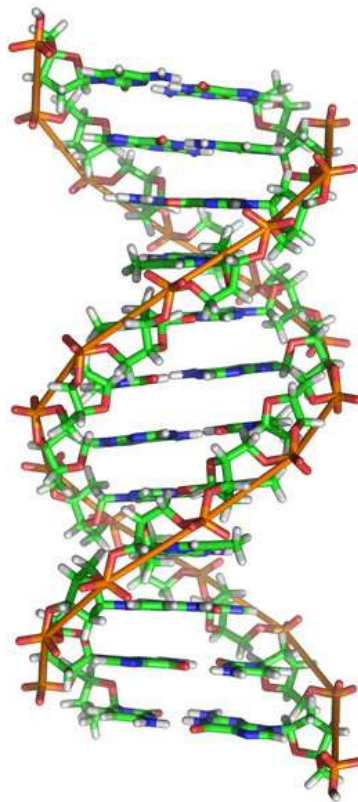
Conformația Z:

- dublu helix de stânga,
- pasul elicei 4,56 nm
- nr. perechi baze per tur este 12.

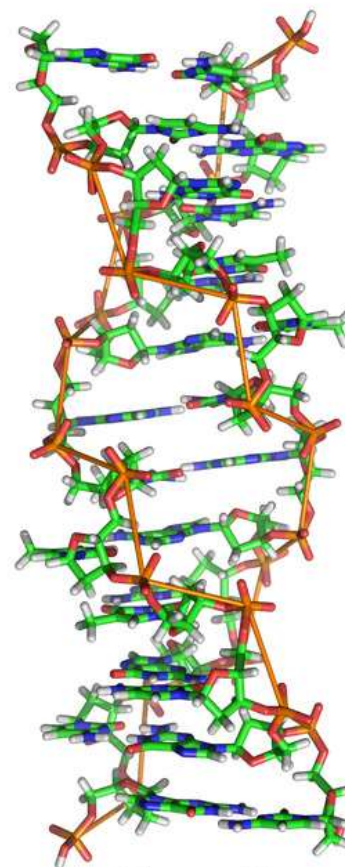




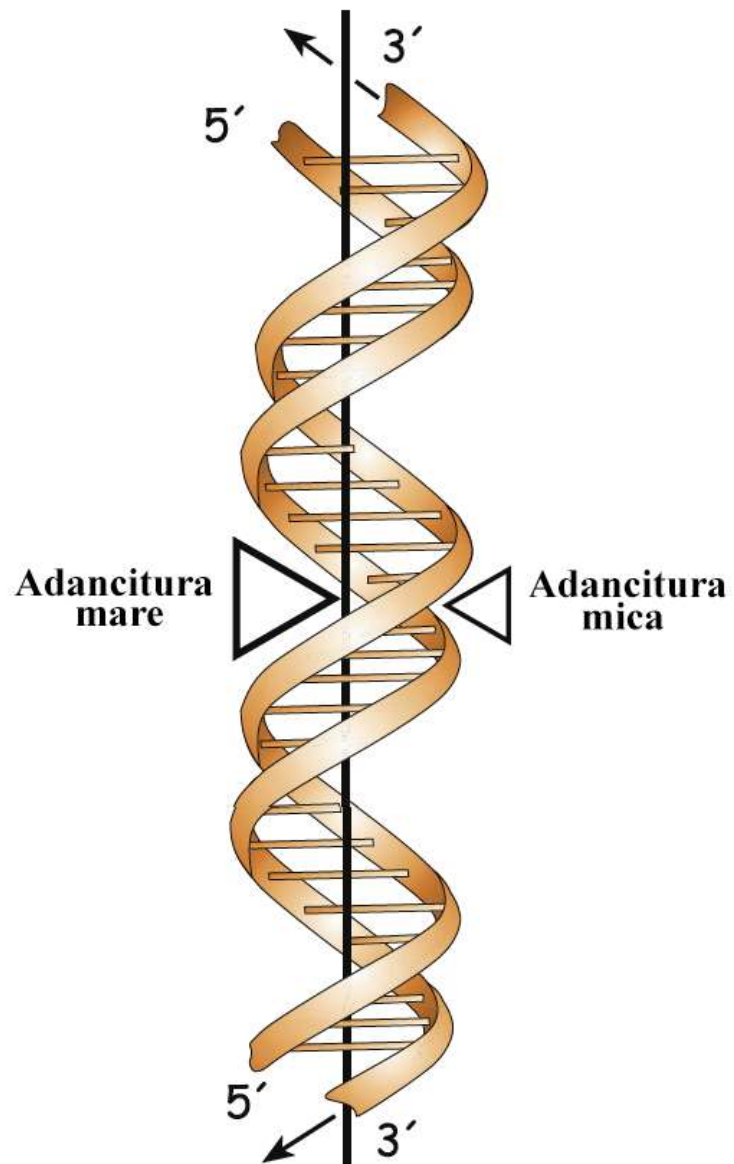
Forma A

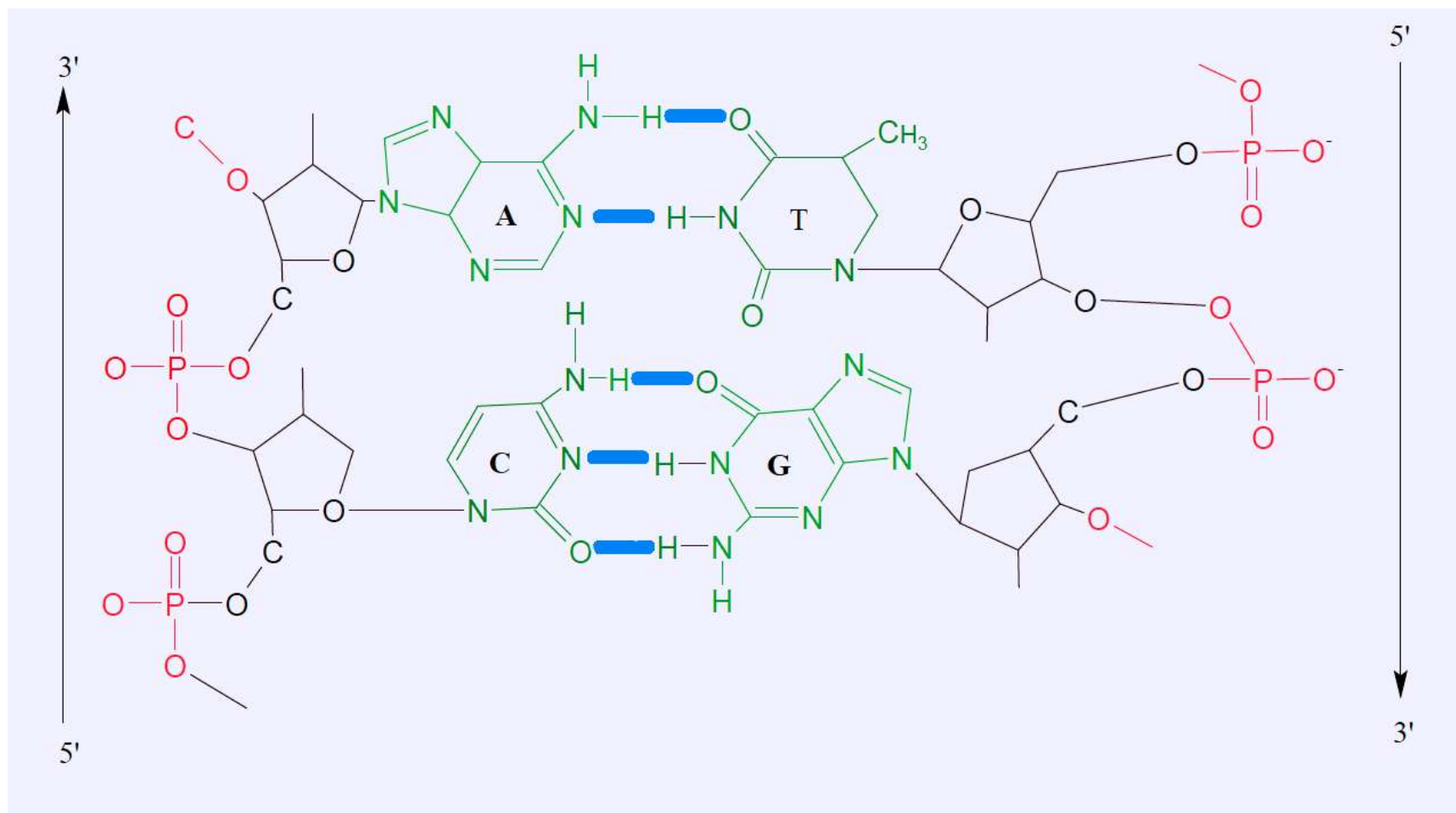


Forma B



Forma Z





STRUCTURA TERTIARĂ A ADN

De la ADN la cromozomi

- În eucariote ADN-ul este stocat sub formă compactă în nucleu.
- Structura terțiară explică superhelicarea și compactarea moleculei ADN cu ajutorul proteinelor, fenomen necesar potrivirii cu dimensiunile reduse ale nucleului.
- Există **cinci nivele de compactare a ADN** care conduce la o scădere de 10.000 de ori lungimii ADN.

Structura terciara a ADN

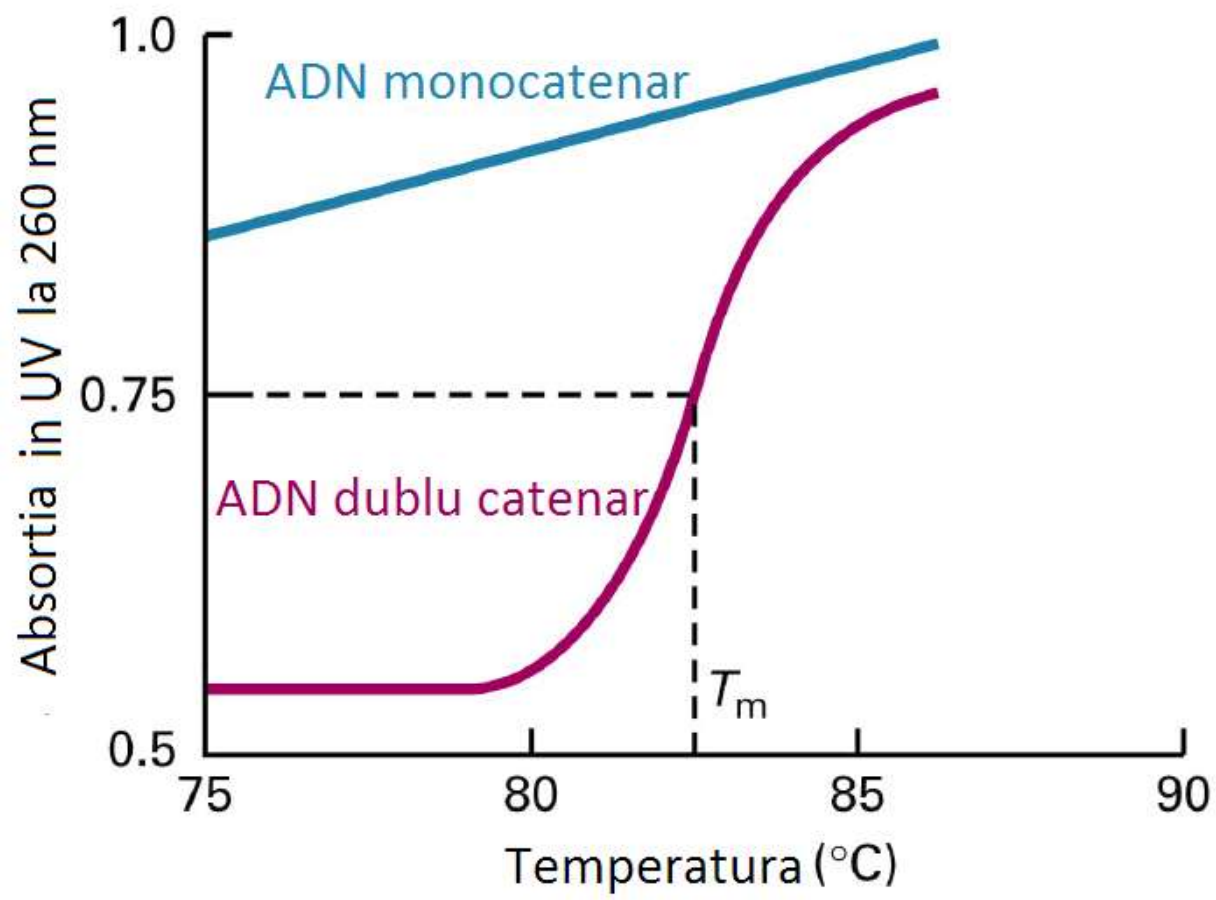
- cele două lanțuri antiparalele se răsucesc spre dreapta în jurul unui ax central
- bazele azotate fiind hidrofobe se găsesc orientate către interiorul helixului iar gruparea fosfat și dezoxiriboza sunt dispuse către exterior
- legăturile de hidrogen și interacțiunile de tip van der Waals ce se stabilesc între bazele azotate perechi stabilizează alfa helixul
- secvența bazelor de-a lungul lanțului polinucleotidic este cea care transferă informația genetică
- lanțul dublu helicoidal prezintă două adâncituri caracteristice, una mare și alta mică

Proprietățile ADN

- Dublul helix are capacitatea de a se desface și a se reface sub acțiunea agenților chimici și a temperaturii.
- Astfel sub acțiunea agenților chimici bazele din structura acizilor nucleici sunt ionizate și astfel se desfac legăturile de hidrogen ce stabilizează helixul, acest proces se numește *denaturare*.

Proprietățile ADN

- Dacă desfacerea helixului are loc datorită temperaturii procesul se numește **topire (melting)**, iar temperatura la care jumătate din structura helicoidală se pierde se numește **temperatură de topire** (temperatura de melting- T_m).
- Dacă temperatura este scăzută încet lanțurile monocatenare complementare se pot realinia și lega prin intermediul perechilor de baze complementare, refacând astfel dublu helix identic cu cel original. Acest proces este numit **renaturare, realiniere sau hibridizare**.



Proprietățile ADN

- Procesul prin care un lanț monocatenar al ADN este legat prin complementaritate la o catenă ARN este numit **hibridizare**.
- ADN absoarbe în ultraviolet (UV) datorită bazelor purinice și pirimidinice, având un maxim de absorbție la 260nm.
- Denaturarea ADN determină o creștere a absorbției în UV.
- Reasocierea, determină o scădere a absorbției în UV la 260nm

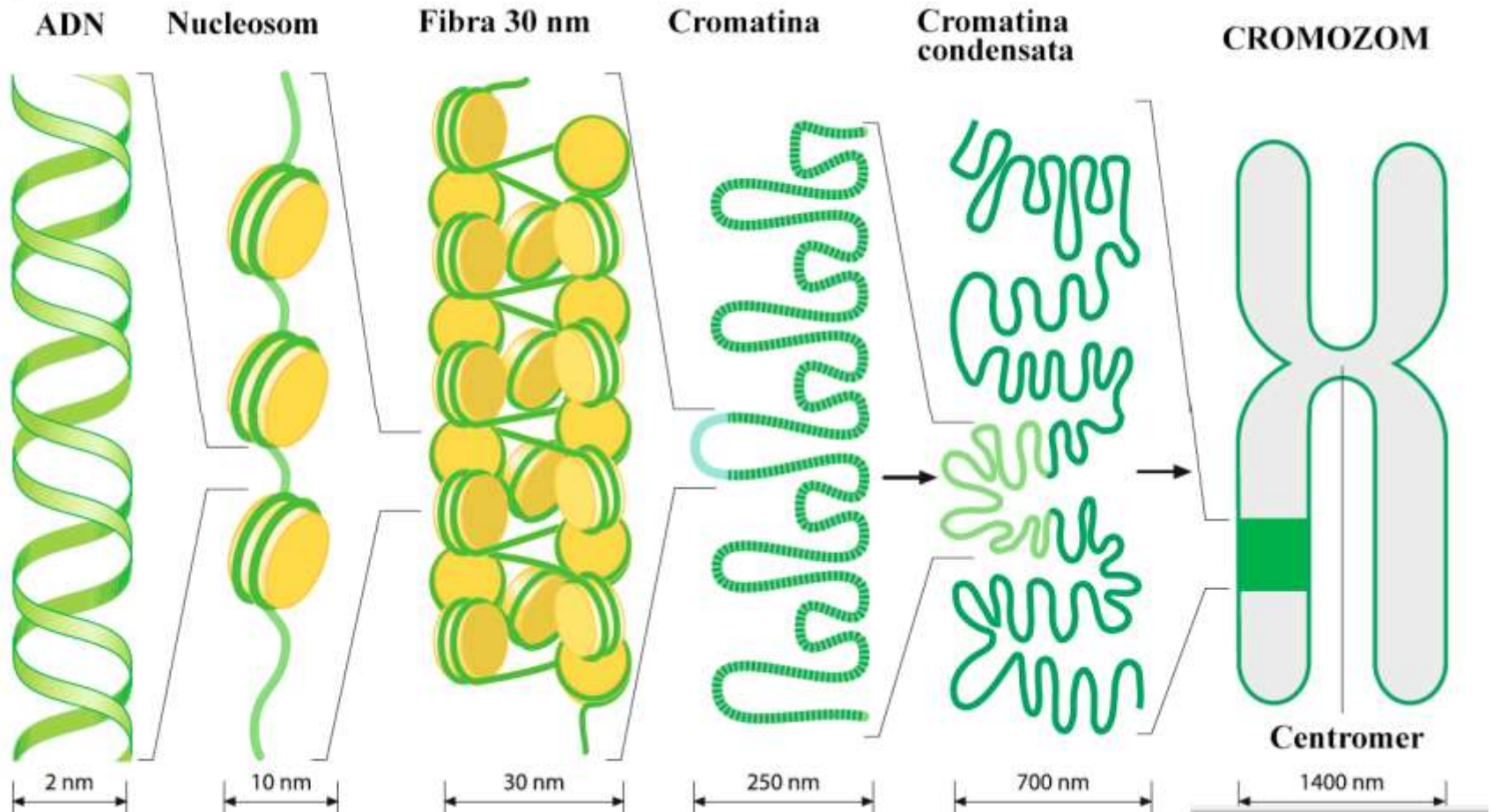
Împachetarea ADN

- Pentru a putea fi localizat la nivelul nucleului unei celule care are aproximativ 15 micrometri, ADN-ul trebuie să formeze o structură compactă.
- Această compactare este posibilă cu ajutorul **histonelor**, proteine bazice atașate ADN și formării unor structuri succesive supramoleculare deosebit de compacte

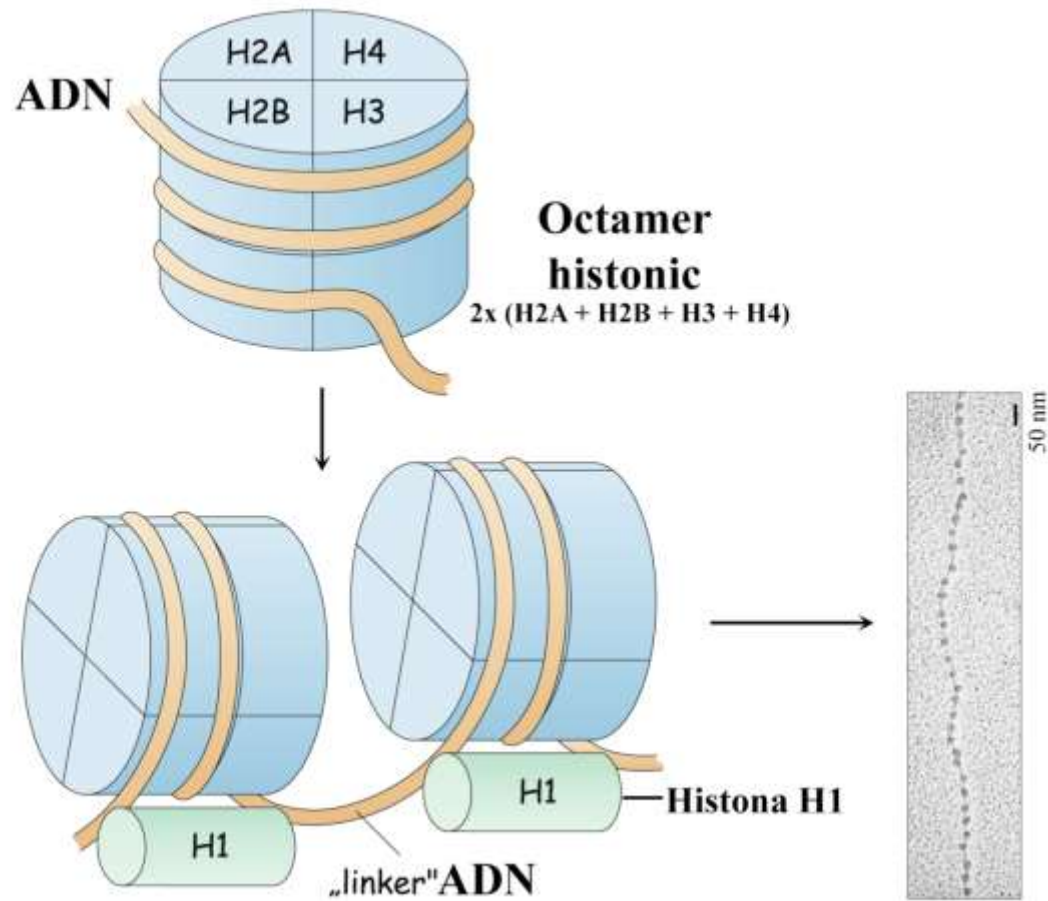
Împachetarea ADN

- Mai întâi 140 de baze perechi din lanțul de ADN se încolăcesc pe un octamer format din cele 4 histone, H2A, H2B, H3, H4, formând o structură nucleosomală în timp ce histona H1 leagă nucleosomii, vizibili la microscopul electronic ca niște mărgelile înșirate pe o ață.

Împachetarea ADN



Împachetarea ADN



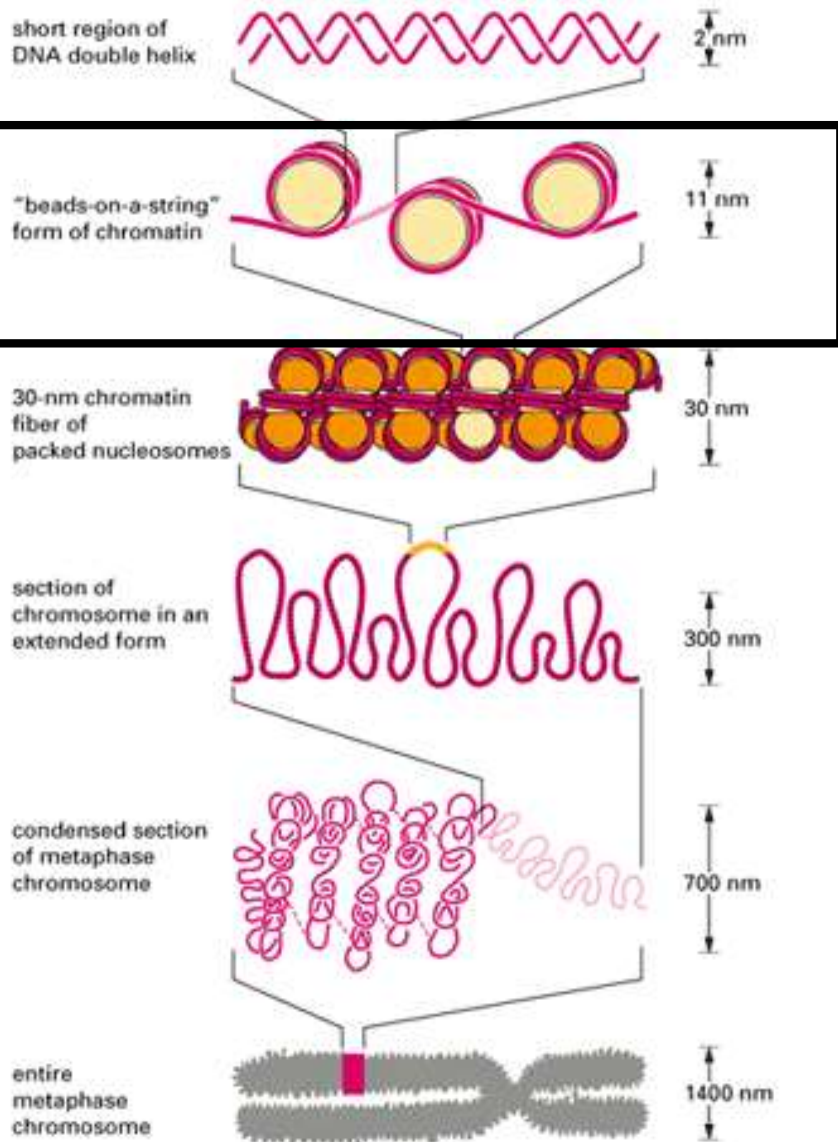
Împachetarea ADN

- **Histonele** sunt **proteine** care au în compoziție un număr mare de **aminoacizi bazici** ca **arginina și lizina** și deci sunt **încărcate pozitiv** la pH fiziologic.
- Sarcina pozitivă duce la formarea unor complexe bazate pe atracție electrostatică puternică între gruparea fosfat din nucleotide care este încărcată negativ și sarcinile pozitive generate de cei doi aminoacizi bazici menționați.

Nivelele de compactare a ADN în nucleu

Primul nivel

- Dublul helix de ADN se înfășoară în jurul unor octameri proteici formați din **histone**- formând compelxe histonice numite **nucleozomi**.
- Histonele sunt proteine bazice cu masă moleculară mică (max. 20.000), bogate în amino acizi bazici
- În jurul **octamerului histonic** este spiralat ADN-ul nucleozomic.
- Nucleozomii sunt legați între ei prin ADN intrenucleozomic sau **ADN linker**. Histona H1 interacționează cu ADN linker, având rol în superspiralizarea nucleozomilor.



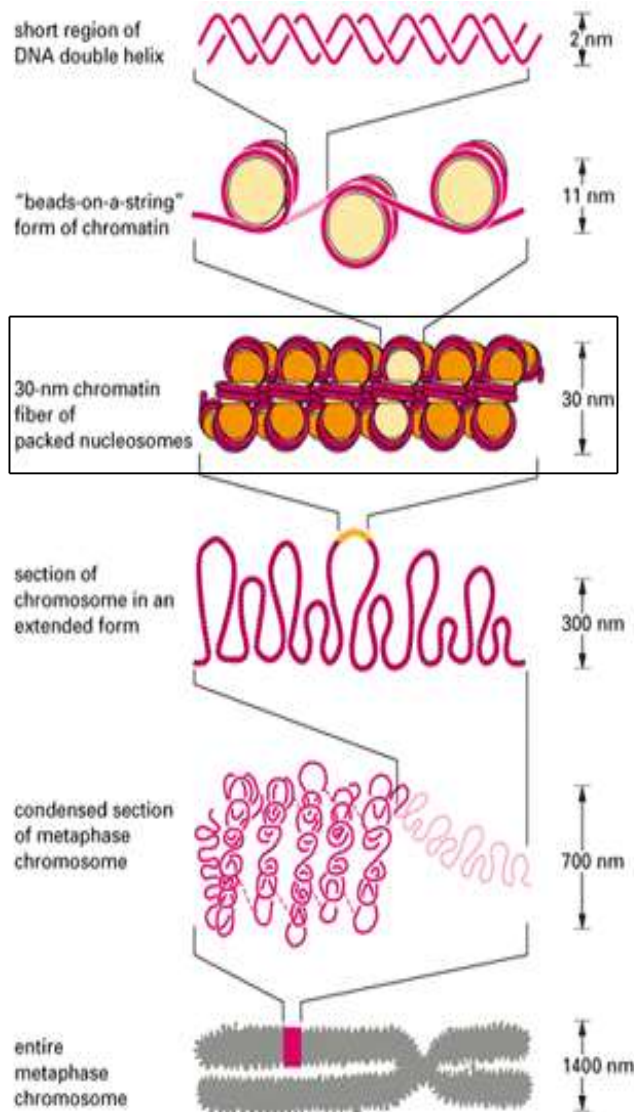
Mărgele de ametist

Polinulceozomul seamănă cu niște “mărgele pe ață” (= fibrile de cromatină de 10 nm).



Nivelele de compactare a ADN în nucleu

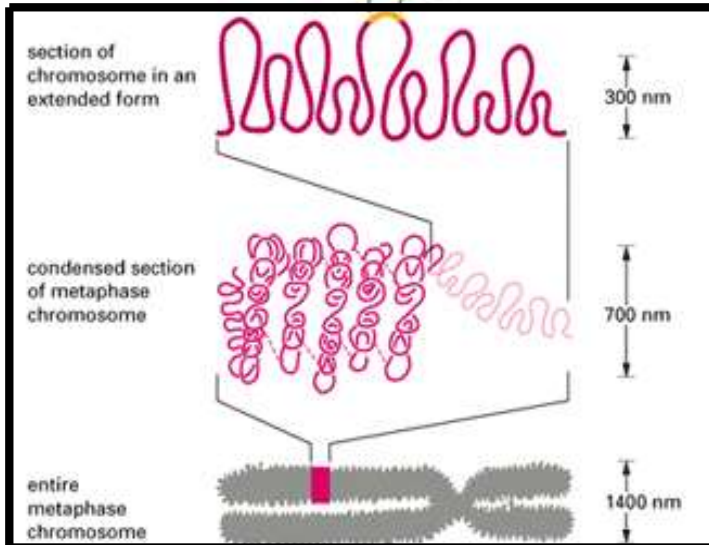
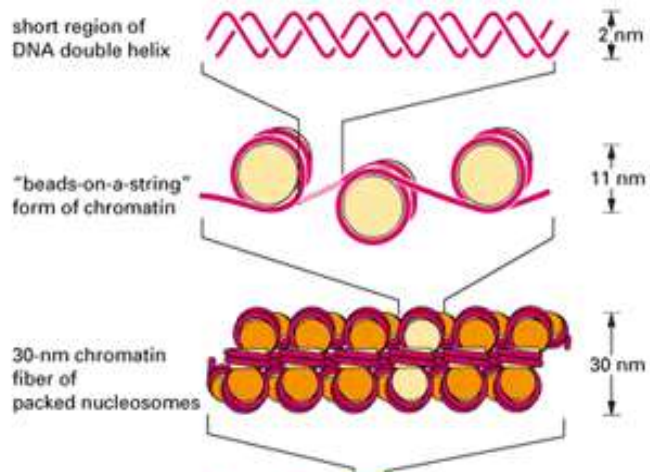
--



Nivelul 2

- Polinucleozomul se superspiralează pentru a forma structura de **solenoid**.
- Solenoidul conține 6-7 nucleozomi per tur. Pasul e de 10 nm, diametrul de 30 nm.
- Solenoidul formează fibrele de cromatină de 30 nm.

Nivelele de compactare a ADN în nucleu



Nivelele 3, 4 și 5

- Fibrele de cromatină se compactează și mai mult formând **domenii în formă de buclă**.
- Aceste domenii în buclă sunt superspiralizate și organizate în structuri distincte numite **cromozomi**.
- ADN -ul uman nuclear (genomul) constă în 23 perechi de cromozomi.

ADN-ul și genele

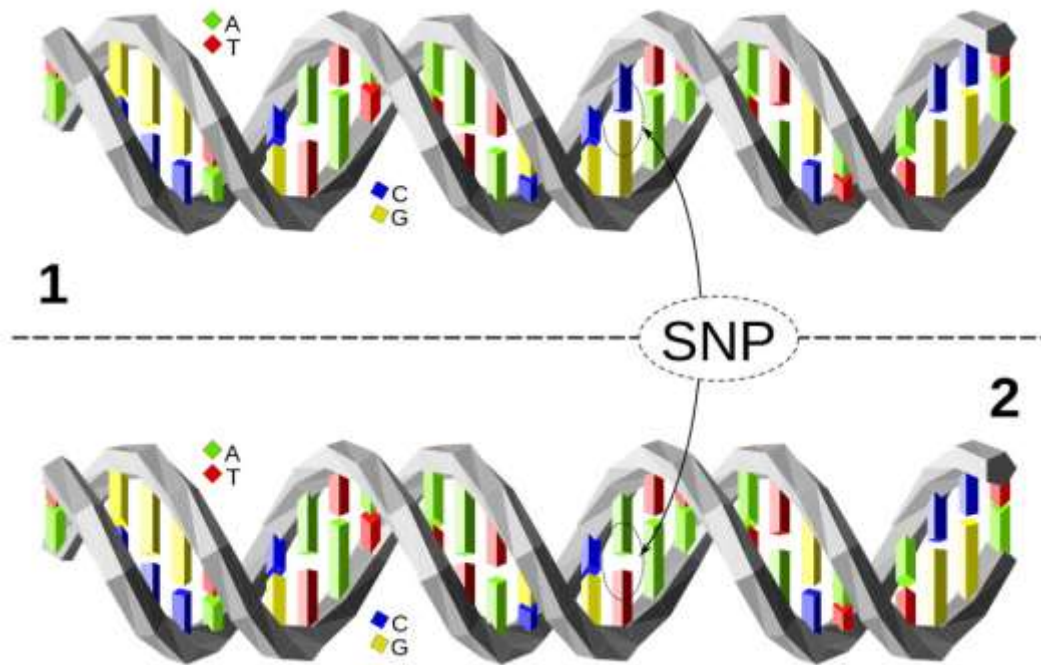
- Informațiile biochimice conținute în cromozomi, sunt convertite într-o secvență de aminoacizi din proteine.
- Proteinele sunt constituenți ai celulelor, țesuturilor, organelor și sistemelor.
- Prin urmare toate părțile anatomice ale noastre reflectă activitatea cromozomilor.
- Astfel structura chimică a corpului este determinată genetic, acidul dezoxiribonucleic fiind substanța cheie a cromozomilor.

Analiza genomului uman

Genomul uman se caracterizează prin:

- aproximativ 25.000 gene care codifică aproximativ 150.000-200.000 proteine
- circa 30% din genom este transcripționat în RNA dar numai 2% codifică proteine.
- Cea mai lungă genă este cea care codifică proteina numită distrofina care este alcătuită din 450 aminoacizi
- Numărul total de proteine codificate de genomul uman se ridică la aprox. 200.000 grupate în 1200 de familii
- 45% din genomul uman conține secvențe cu grad ridicat de repetabilitate grupate sub formă de:
 - ✓ -sateliți
 - ✓ -minisateliți
 - ✓ -microsateliți.
- Diferența dintre doi indivizi este reflectată de "single nucleotide polymorphism" (SNP) care reprezintă diferența dintre 2 segmente de ADN aparținând celor 2 indivizi și care diferă la nivelul bazelor individuale.

Analiza genomului uman



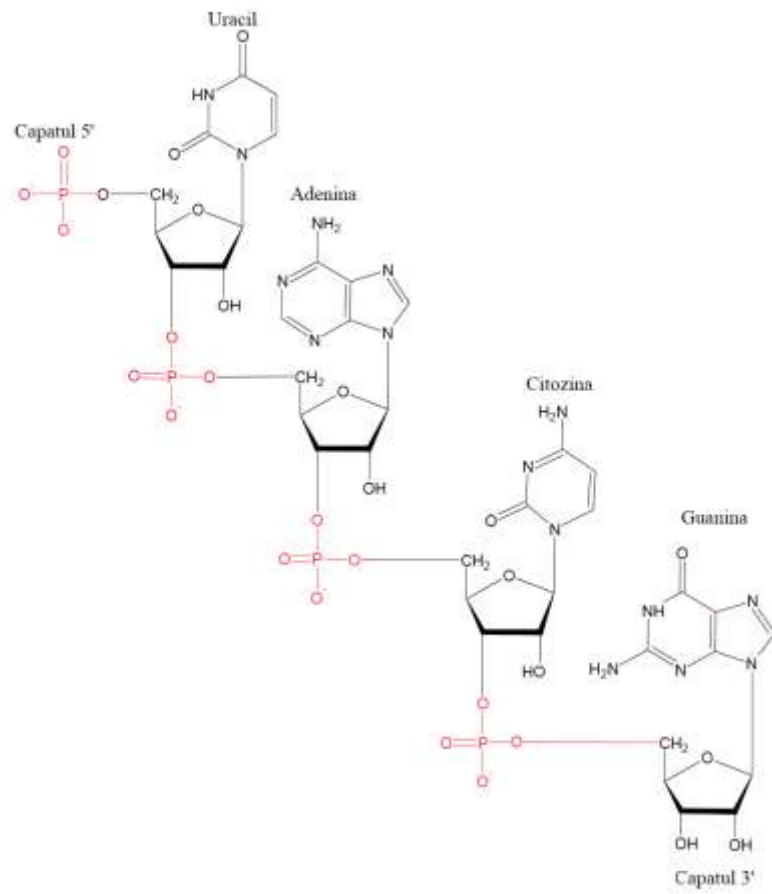
Diferența dintre doi indivizi este reflectată de diferențe la nivelul bazelor individuale. De exemplu, persoana X are la poziția 200 din gena care codifică o transaminază baza Adenina în timp ce persoana Y are în aceeași poziție, Timina.

Structura și funcțiile ARN

- Acizii ribonucleici sunt compuși de policondensare a **ribonucleotidelor**.
- Componenta **glucidică** din structura ARN este **riboza** (conține grupare OH la atomul de carbon 2')
- bazele azotate sunt: adenina, citozina, guanina și uracilul.
- ribonucleotidele sunt legate între ele, ca și în structura ADN, prin legături **3' - 5' fosfo-diesterice**

Structura și funcțiile ARN

- Acizii ribonucleici sunt compuși de policondensare a **ribonucleotidelor**.
- Componenta **glucidică** din structura ARN este **riboza** (conține grupare OH la atomul de carbon 2')
- bazele azotate sunt: adenina, citozina, guanina și uracilul.
- ribonucleotidele sunt legate între ele, ca și în structura ADN, prin legături **3' - 5' fosfo-diesterice**



Structura și funcțiile ARN

- în compoziția ARN nu există același număr de baze perechi decât la nivelul unor regiuni limitate.
- molecula de ARN este predominant **monocatenară**, acolo unde se găsesc baze complementare acesta se organizează în **regiuni dublu helicoidale**.
- porțiunile nehelicoidale capată aspectul unor bucle.
- ARN-ul este distribuit în celulă mai ales în citoplasmă, doar 10% se găsește în nucleu.

Tipuri de ARN

- ARN mesager (ARNm) reprezintă aproximativ 5%
- ARN de transfer (ARNt) reprezintă aproximativ 10-15%
- ARN ribosomal (ARNr) reprezintă aproximativ 80-85%

ARN mesager

- sintetizat prin procesul de transcripție a ADN la nivelul nucleului, de aici fiind eliberat prin porii nucleari in citoplasmă, unde se leagă de ribozomi și ARNt și codifică aminoacii specifici din lanțul polipeptidic.
- “molecula informațională”, codificând compuși importanți precum enzime, proteine, hormoni, prin procesul numit *translație*.

ARN mesager

- ARNm care se atașează de ribozomi nu este identic cu cel sintetizat în nucleu conținând și secvențe care nu codifică aminoacizi numite **“introni”**.
- Această formă “brută” de ARNm se numește **“pre ARNm”** iar procesul prin care aceste secvențe intronice sunt îndepărtate se numește **“splicing”**.

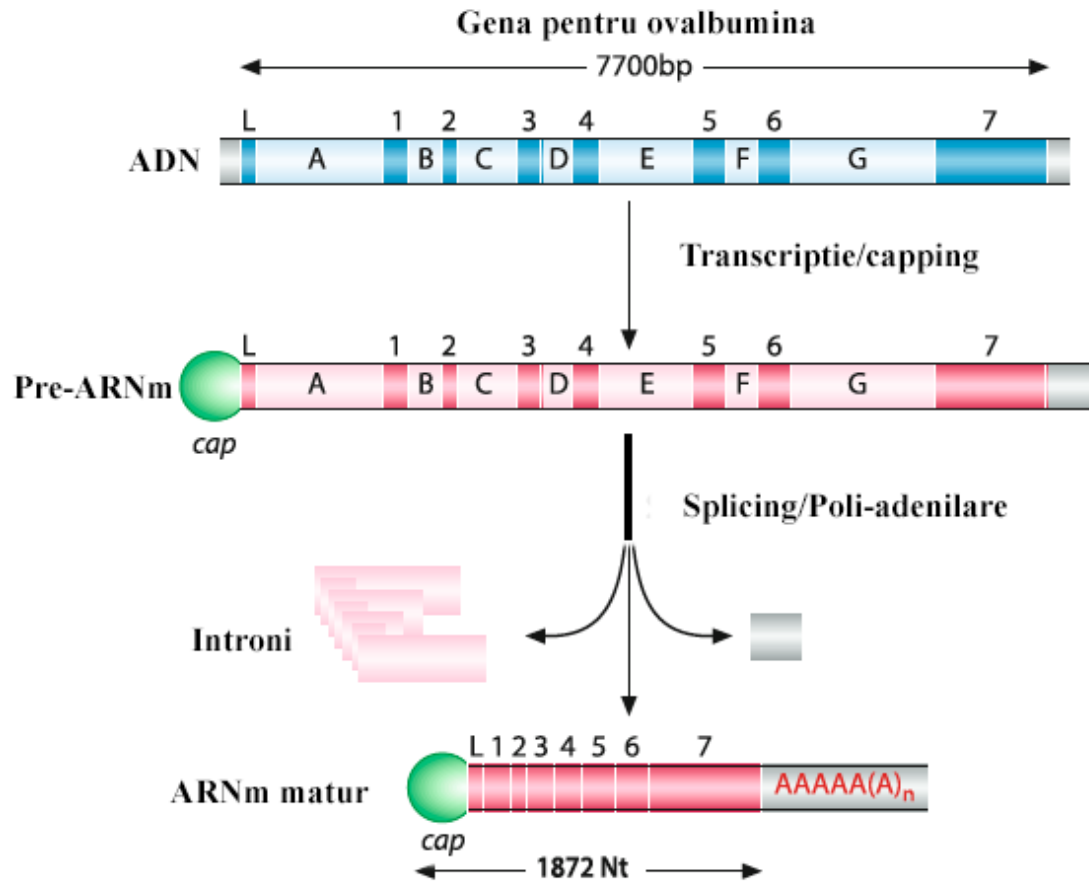
ARN mesager

- ARNm care se atașează de ribozomi nu este identic cu cel sintetizat în nucleu conținând și secvențe care nu codifică aminoacizi numite **“introni”**.
- Această formă “brută” de ARNm se numește **“pre ARNm”** iar procesul prin care aceste secvențe intronice sunt îndepărtate se numește **“splicing”**.

ARN mesager

- procesul de **splicing** este catalizat de un complex ribonucleoproteic **numit spliceosome**
- La celulele eucariote ARNm matur constă dintr-o secvență **“cap” la capătul 5`** care este **necodificatoare** și începe cu **guanozina**, iar la **capatul 3`** este o secvență **“coada”** numită poli(A) care este și ea o **secvență netraductibilă**.

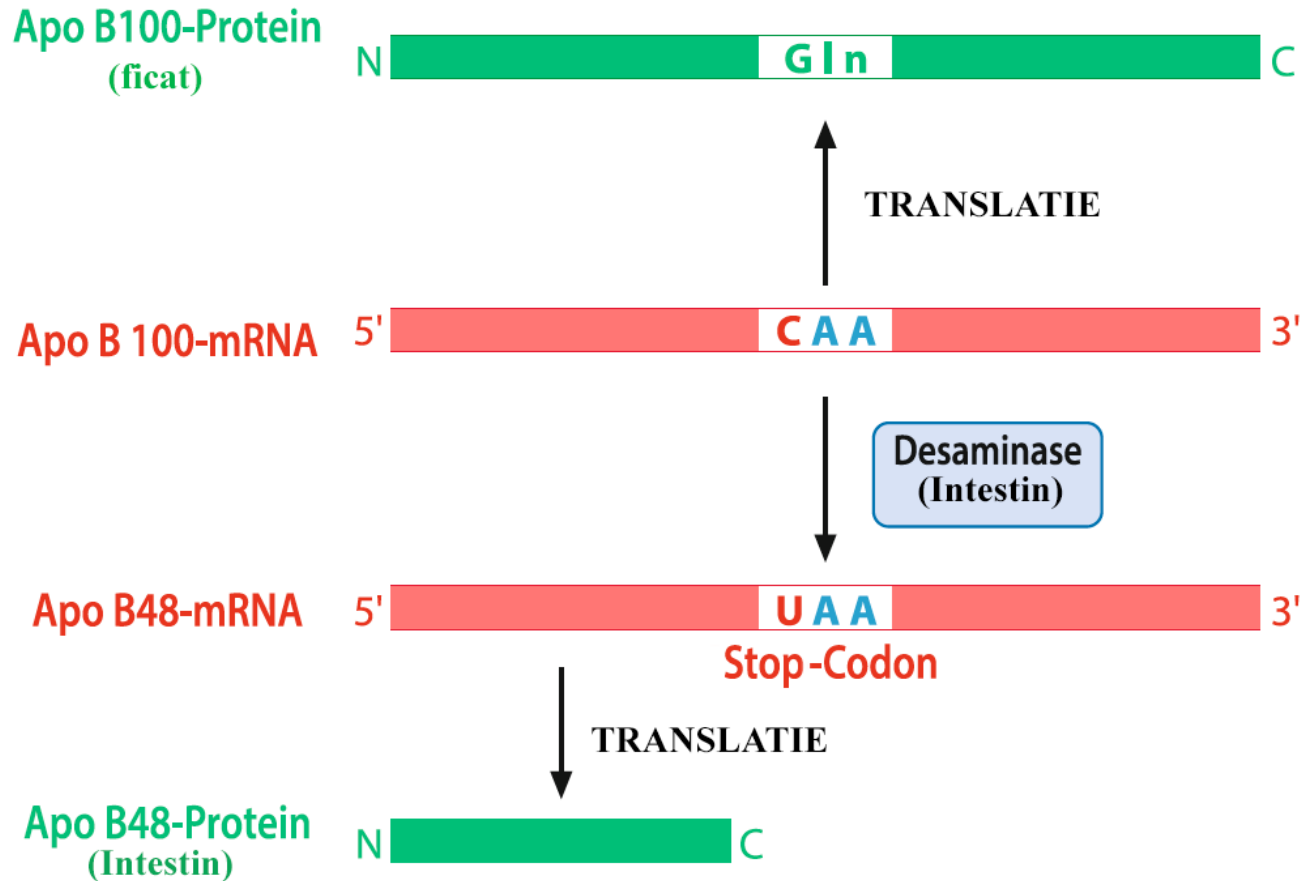
ARN mesager



ARN mesager

- **Regiunea de codificare** conține informații variate sub forma unor triplete numite codoni (ex: GAA, UAG, GUU, GUC etc).
- **Codonii start și stop** reprezintă locul unde începe și se termină sinteza proteică.
- **Proces de editare** (“editing”) prin care dintr-o moleculă de **ARNm pot rezulta două proteine diferite** dar **cu rol înrudit** cum este cazul apolipoproteinei B100 și B48, prima localizată în ficat și cealaltă în intestin deși provin din același ARNm.

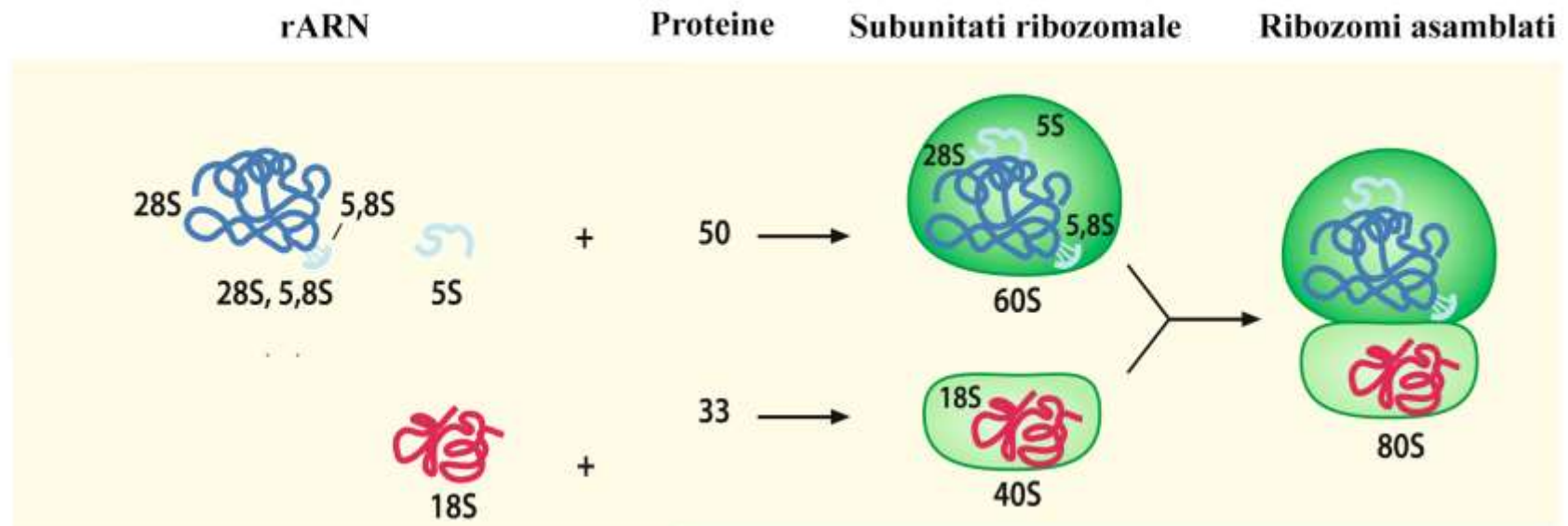
ARN mesager



Structura ARN ribozomal

- Se găsește combinat cu proteine (60% proteine și 40% ARN) sub forma unor agregate macromoleculare numite ribozomi ce se găsesc în citoplasma celulelor.
- Unitatea de măsură pentru sedimentare este unitatea Svedberg (S).
- Celulele eucariote conțin trei tipuri de ARNr: 18S, 28S, 5,8S și 5S.
- Subunitatea **40S** este alcătuită din ARNr **18S** și proteine, iar subunitatea **60S** este alcătuită din ARNr **28S și 5S** (sau 5,8S în citoplasmă).
- Cele două subunități se unesc formând ribozomul 80S locul unde are loc sinteza proteinelor.
- La nivelul reticulului endoplasmic, 5-8 ribozomi sunt legați între ei prin ARNm formând un poliribozom.
- ARNr de la nivelul mitocondriilor are constanta de sedimentare 55S.

Structura ARN ribozomal



Structura ARN de transfer

- Funcția principală este aceea de a **transporta și a ceda aminoacidul activat** la nivelul situsului de sinteză a proteinelor, unde este încorporat în lanțul polipeptidic.
- Acest lucru este posibil prin **secvența de trei baze din structura ARNt—porțiune numită anticodon** ce recunoaște secvența de trei baze complementare din structura ARNm.

Structura ARN de transfer

- ARNt nu conține numai nucleotide uzuale ci și **nucleotide modificate (baze minore)** cu roluri importante în funcția ARNt.
- Brațul D conține **dihidrouridina (DHU)** și este responsabil de **legarea aminoacidului specific**.
- Un alt exemplu este brațul T ψ C, care conține o secvență de timina, pseudouridina (ψ) și **citozina, este responsabil de legarea la ribozom.**

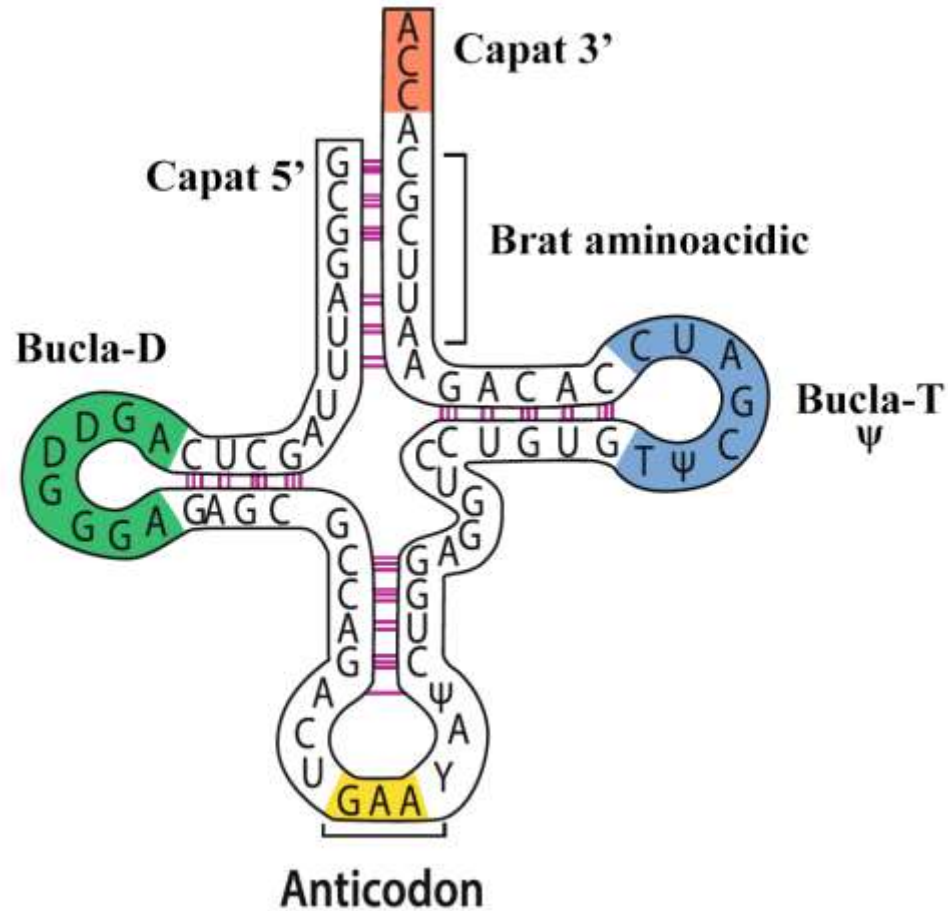
Structura ARN de transfer

- ARNt nu conține numai nucleotide uzuale ci și **nucleotide modificate (baze minore)** cu roluri importante în funcția ARNt.
- Brațul D conține **dihidrouridina (DHU)** și este responsabil de **legarea aminoacidului specific**.
- Un alt exemplu este brațul T ψ C, care conține o secvență de timina, pseudouridina (ψ) și **citozina, este responsabil de legarea la ribozom.**

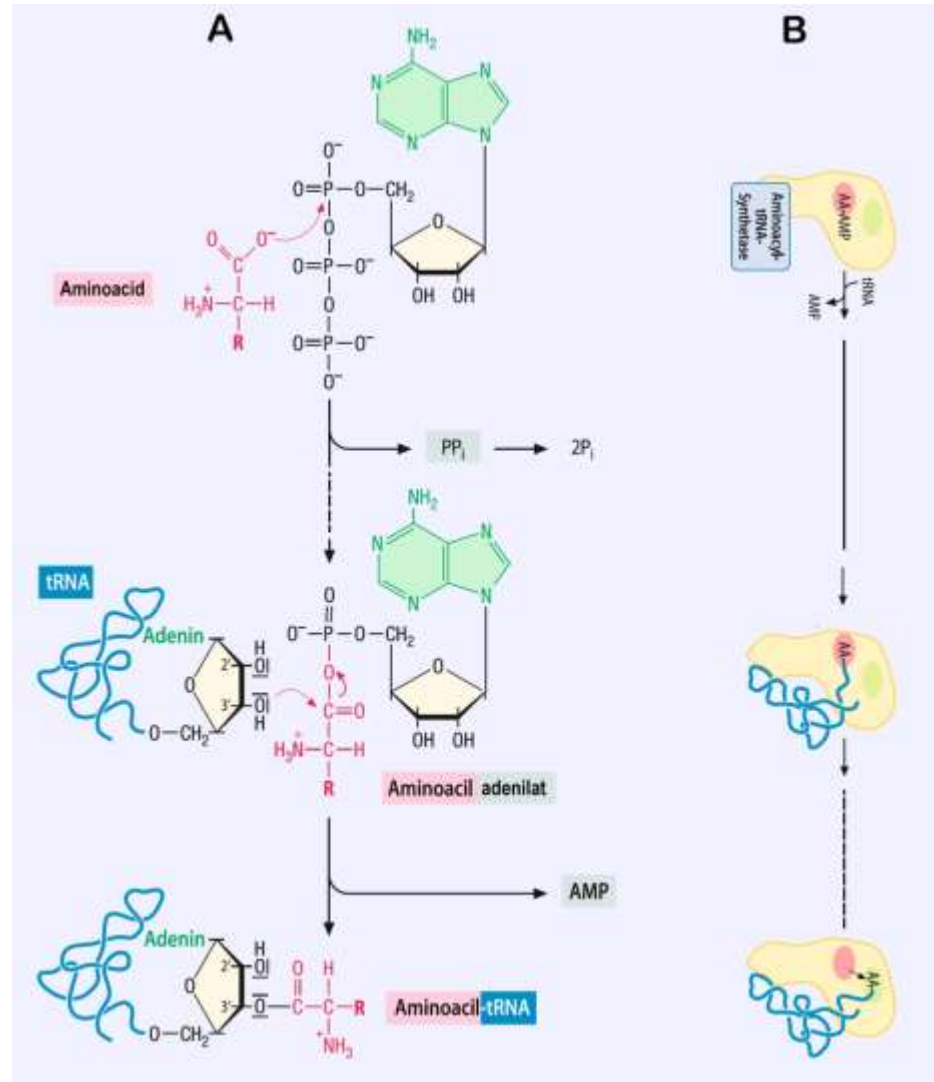
Structura ARN de transfer

- Capatul 5' terminal este format din guanozină, iar capatul 3' conține secvența CCA.
- Aminoacidul se atașază la gruparea hidroxil a ribozei din structura adenozei, prin legătura de tip ester la care participă cu gruparea carboxil.
- Reacția este catalizată de aminoacil-tARN sintaza.
- Astăzi este certă existența a cel puțin 21 de tipuri de ARNt, câte unul pentru fiecare aminoacid.

Structura ARN de transfer



Structura ARN de transfer



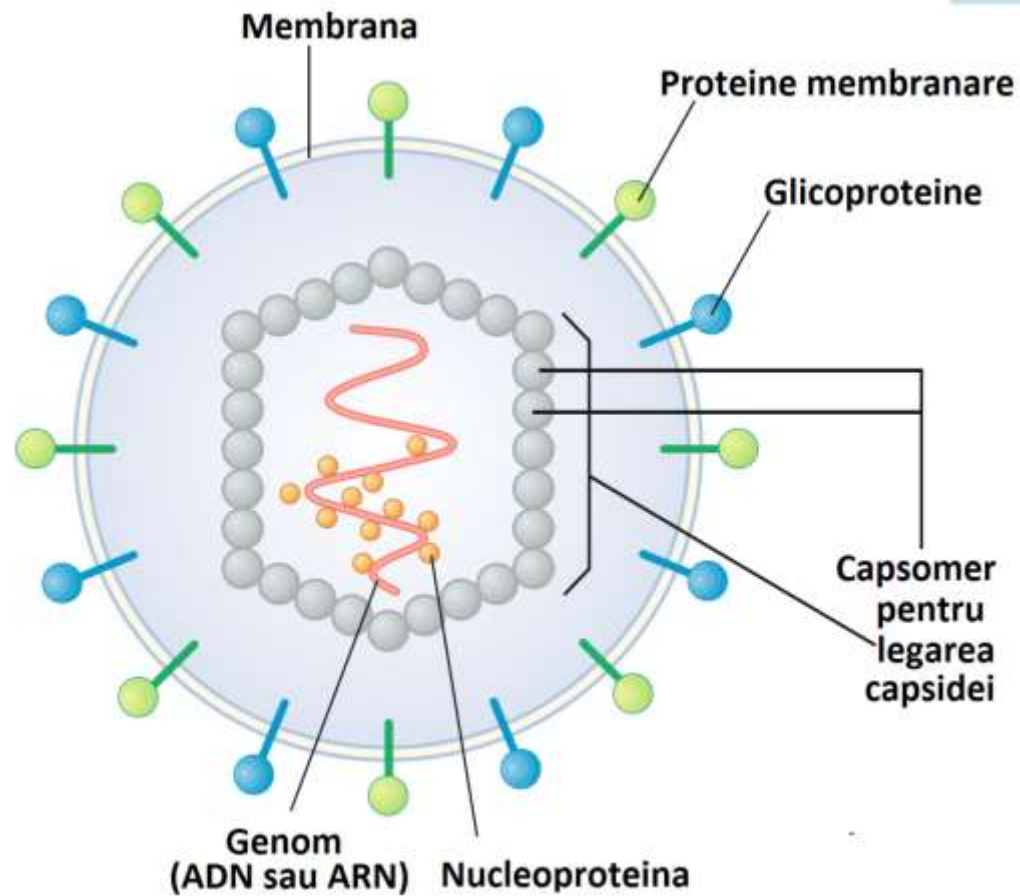
Acizii nucleici virali

- **ARN-Virusuri** (conțin ARN ca element informational) denumiți **RIBOVIRUSURI** sau **RETROVIRUSURI**
- **ADN-Virusuri** (conțin ADN ca element informational) denumiți **ADENOVIRUSURI**

ARN-virusuri

- Virusurile ARN conțin:
 - ARN ca element informațional;
 - O proteină de structură (GAG-Protein)
 - Polimeraza-necesară replicării- (POL-Protein)
 - Glicoproteina protectoare-de înveliș-(ENV-Protein) ce permite supraviețuirea în afara celulei gazdă.

ARN-virusuri



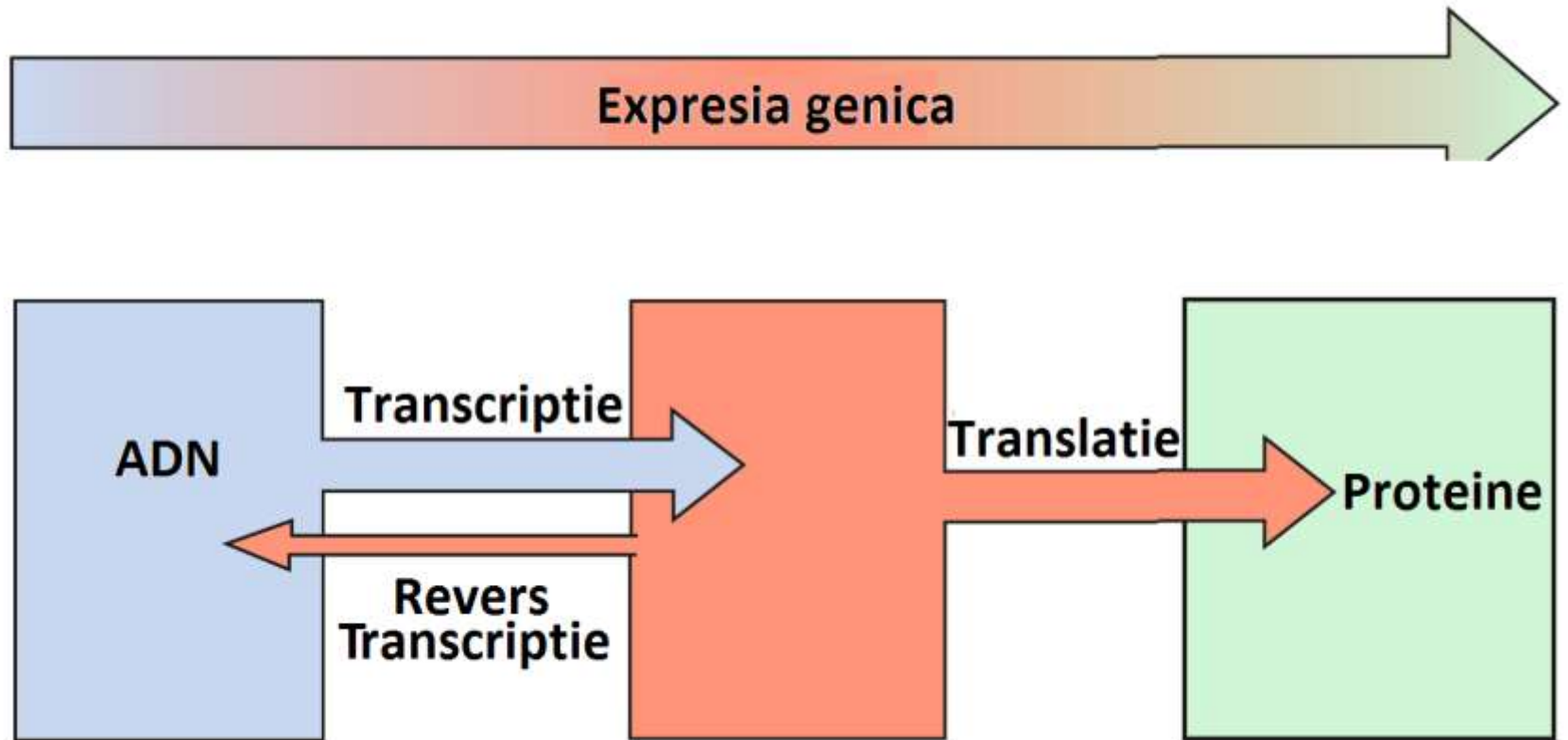
ARN-virusuri

- Hepatita C;
- Virusul gripal (Influenza);
- HIV-SIDA (human immunodeficiency virus).

ARN-virusuri

- “Dogma centrală” propusă de Francis Crick, postulează că informația se transmite **de la ADN la ARN și apoi la proteine.**
- Adică, în mod normal **se sintetizează ARN pe matriță de ADN** și apoi informația se materializează prin **sinteza de proteine.**

ARN-virusuri



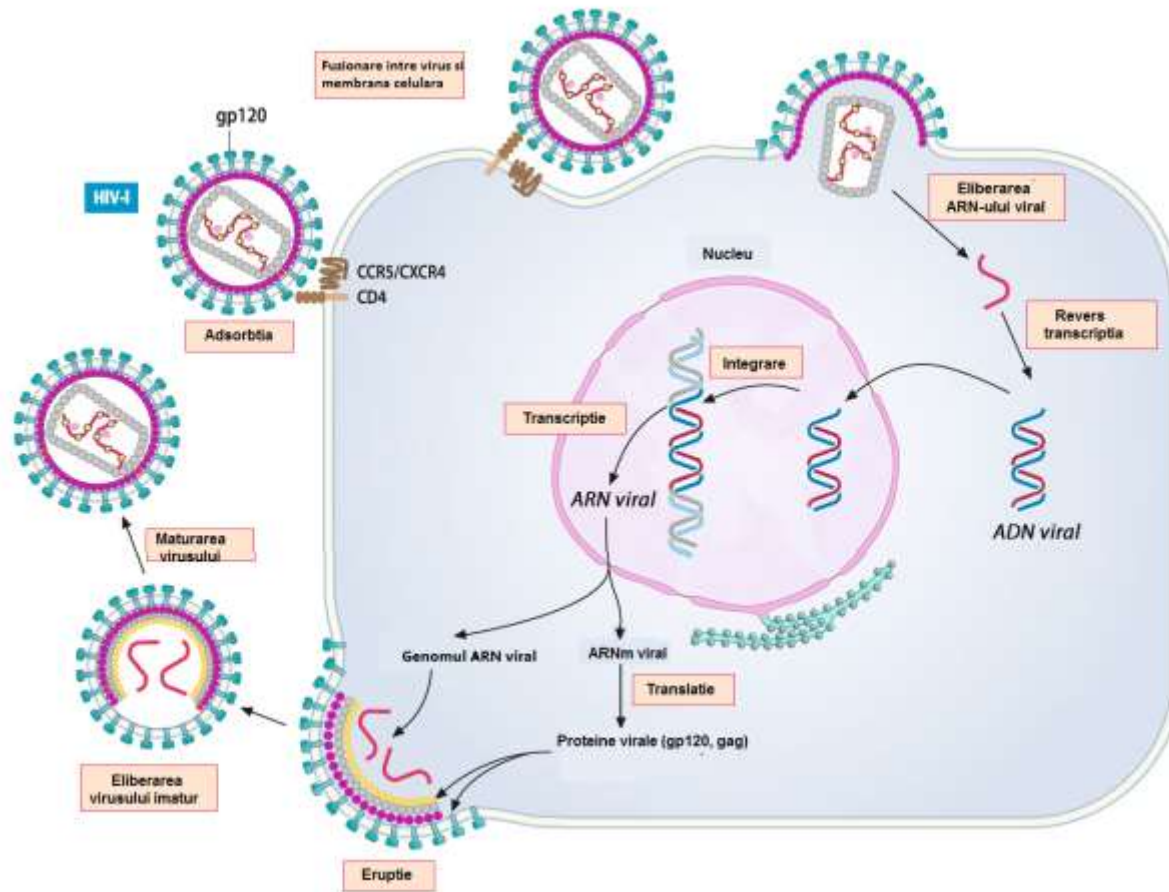
ARN-virusuri

- **Retrovirusurile**, precum **virusul HIV** care este responsabil de apariția bolii SIDA (Sindromul imunodeficienței dobândite umane), este o **excepție** a acestei reguli.
- Retrovirusurile posedă o enzimă numită **reverse transcriptaza** care este capabilă să sintetizeze o **catenă ADN pe matriță de ARN**, sfidând astfel “dogma centrala”.

ARN-virusuri

- Pentru a se multiplica virusul se **atașează la celule** (limfocitele T) prin intermediul unor **structuri de atașare** numite **liganți** care sunt prezente la **nivelul capsulei**.
- Acestea recunosc **receptorii specifici** (acidul sialic pentru virusul gripal sau CD4 pentru virusul HIV), structuri normale de la nivelul membranei celulare.
- Pentru aceasta HIV-1 trebuie să traverseze câteva straturi de țesuturi pentru a putea veni în contact cu celula receptoare.
- După ce invadează celula, ARN-ul genomic, prin **fenomenul de reverse transcripție**, formează o copie de ADN.
- Enzima este codificată de ARN-ul viral și se numește **reverse transcriptaza**.

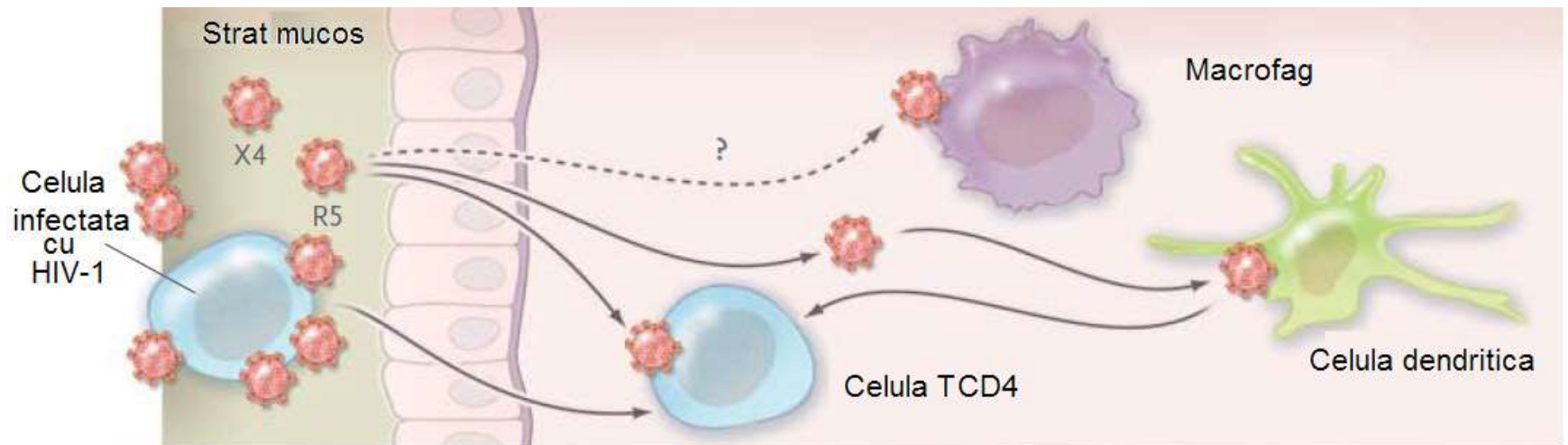
ARN-virusuri



ARN-virusuri

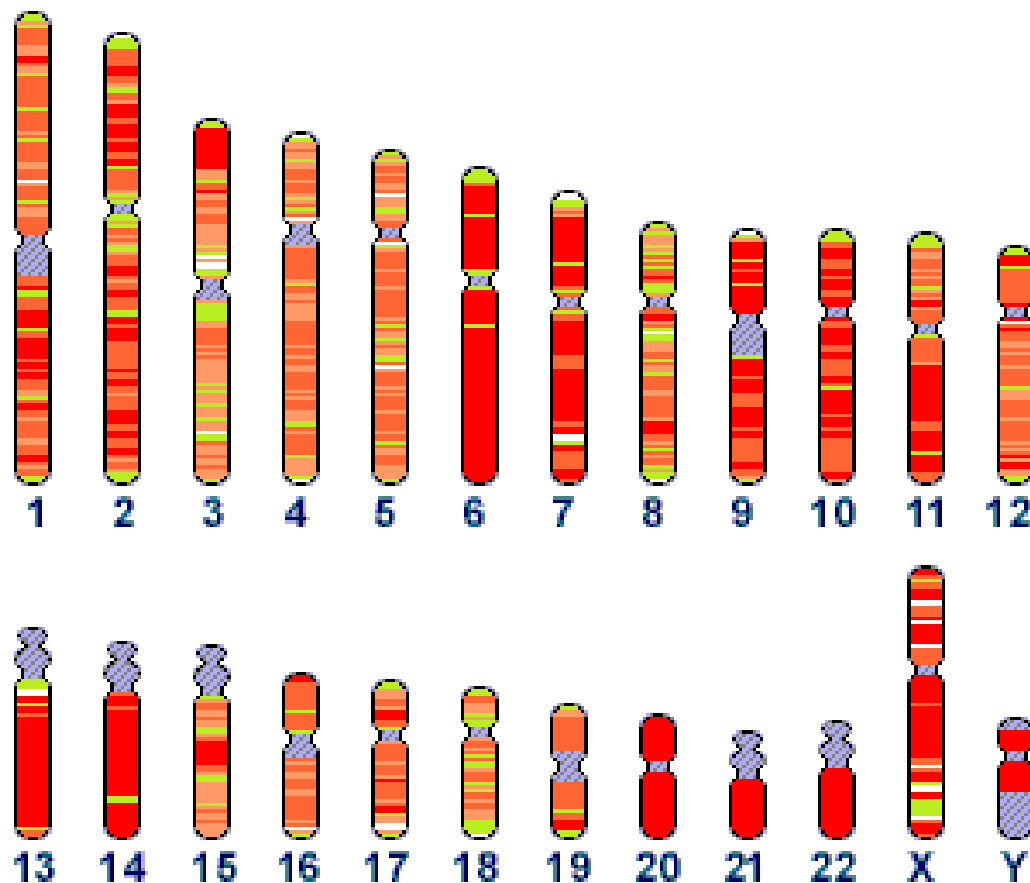
- Această **copie ADN pe matriță ARN viral** se integrează în **genomul celulei gazdă** și utilizează sistemul enzimatic al acesteia în vederea sintezei mai multor copii de **ARN viral și proteine virale**.
- ARN-ul și proteinele sunt apoi împachetate în noi particule virale care sunt eliberate din celula gazdă (urmată de moartea celulei) fiind gata să invadeze noi celule.

ARN-virusuri



Cromozomii genomului uman

În celulele umane, sunt 23 perechi de cromozomi, fiecare având o secvență cu caracteristici unice.



Transmiterea informației genetice

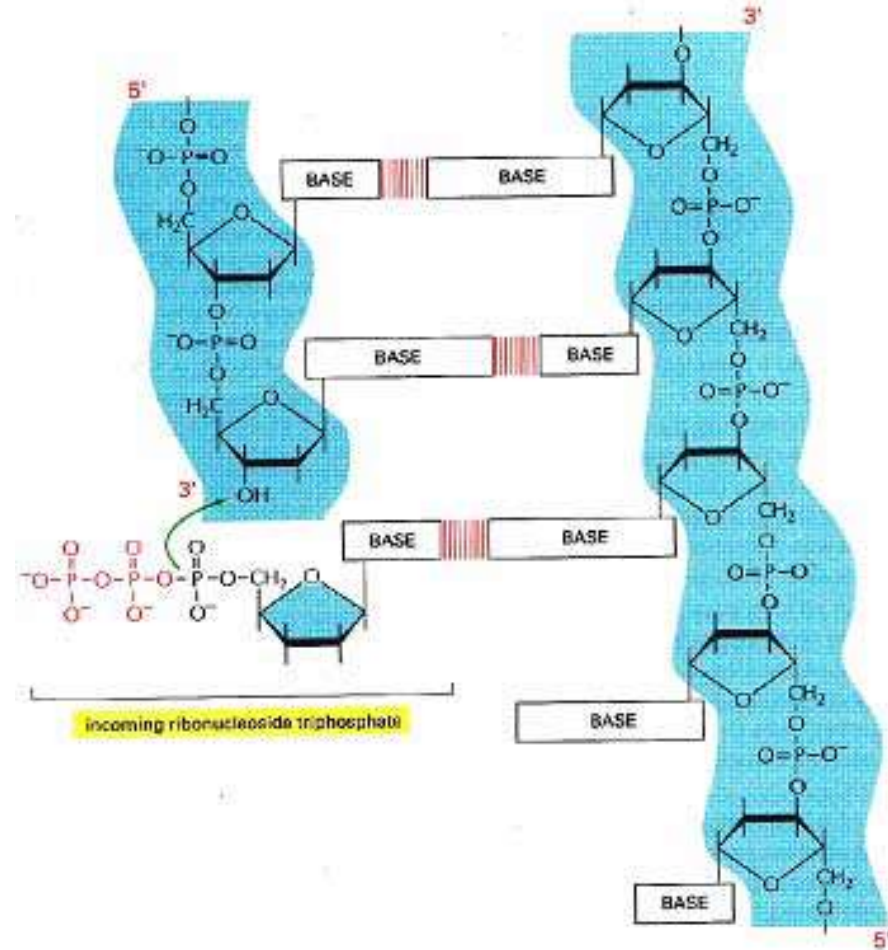
- La sfârșitul celui de-al IX-lea secol, biologii au recunoscut că transportorii informației genetice sunt cromozomii. Ideea prezenței ADN-ului din care sunt formate genele a apărut ceva mai târziu.
- Inițial s-a crezut că proteinele conțin informația genetică, până la mijlocul secolului XX, când s-a descoperit că **ADN-ul** este baza eredității, datorită faptului că este capabil de **auto-replicare**.
- Informația genetică este codificată în mod liniar , de ordinea nucleotidelor din catena ADN-ului: A, C, T și G

Replicarea ADN

- **Replicarea** = procesul prin care cantitatea de ADN dintr-o celulă se dublează și se transmite/regăsește practic neschimbată în fiecare dintre celule
- Replicarea helixului ADN-ului începe cu o separare punctuală a celor două lanțuri complementare.
- Fiecare lanț se comportă apoi ca matriță pentru obținerea unei noi molecule de ADN obținută prin adăugarea secvențială a deoxiribonucleotid-trifosfaților.
- Fiecare nucleotidă ce urmează a fi adăugată este aleasă printr-un proces complex, respectând condiția ca această nucleotidă să fie complementară cu nucleotida existentă în lanțul matriță.

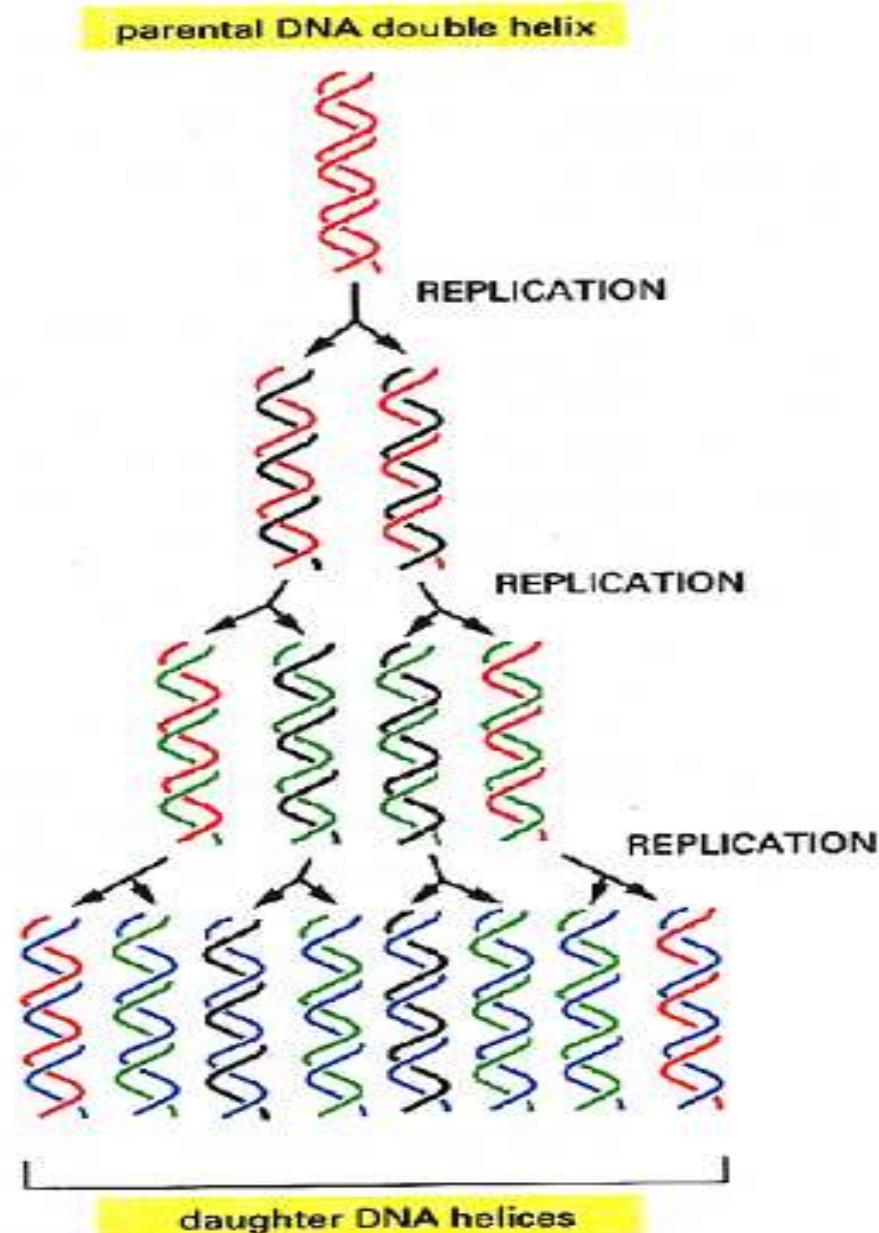
Lanțul nou format

Lanțul matriță



Replicarea ADN

- Dintr-un lanț dublu helicoidal de ADN se obțin două lanțuri identice de ADN
- Fiecare moleculă de ADN sfârșește prin a avea în componența sa unul din lanțurile ADN-ului original, mecanismul de replicare al ADN-ului fiind unul ***semiconservator***



Replicarea

- procesul prin care cele două lanțuri parentale servesc drept matriță pentru sinteza catenei complementare.
- Astfel încât fiecare dintre moleculele de ADN generate după replicare vor fi alcătuite dintr-o catenă veche (parentală) și o catenă nouă sintetizată prin complementaritate.

Sinteza acizilor nucleici

Sinteza ADN

- *replicarea,*
- *repararea*
- *recombinarea.*

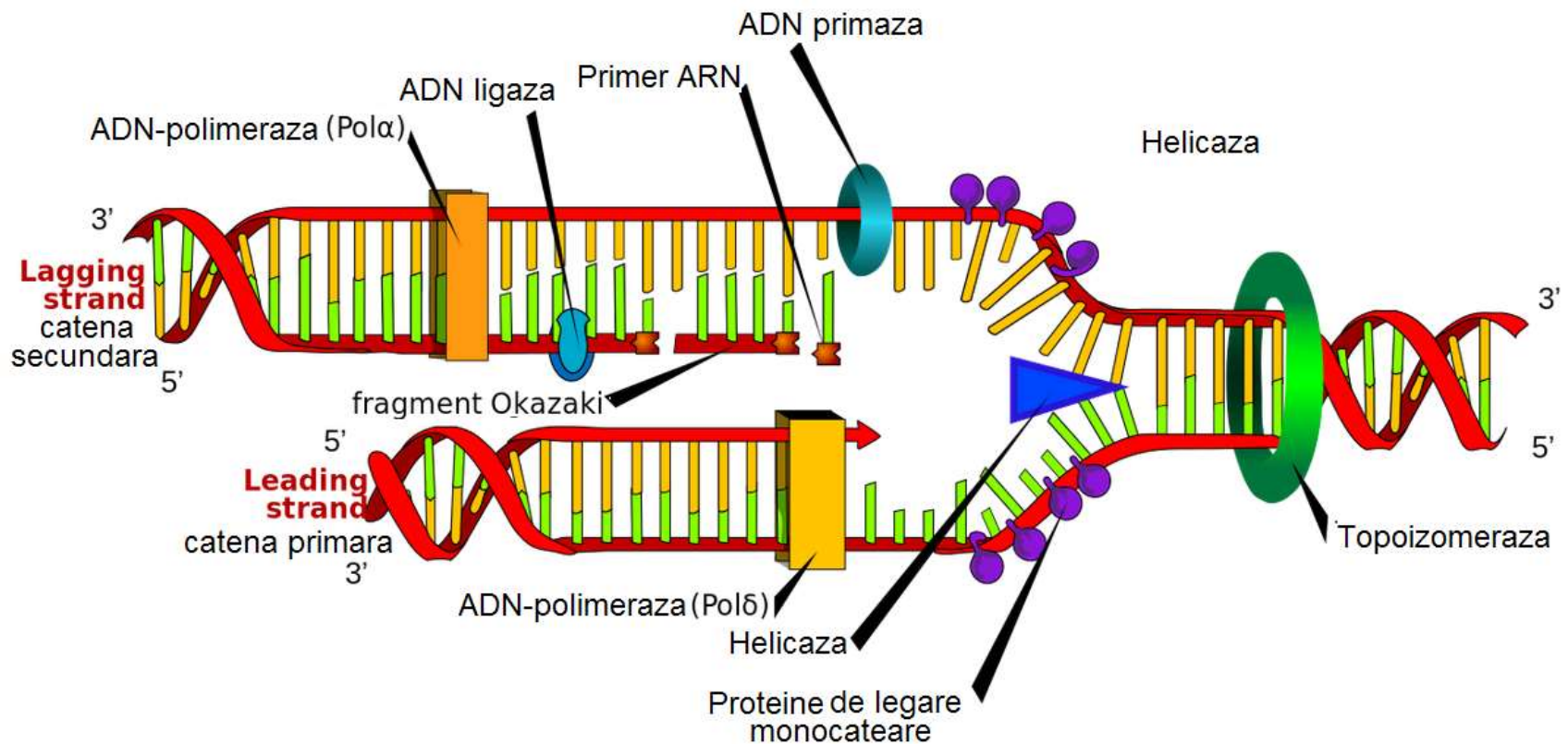
Sinteza acizilor nucleici

Sinteza ADN

- **Sinteza ADN** are loc printr-un proces numit **replicare**.
- Erorile care apar în timpul replicării trebuie reparate.
- Locul unde este **inițiată replicarea** se numește “**furca de replicare**” la acest nivel acționând un sistem complex de enzime, **helicazele și topoizomerazele** sunt enzime care desfac catena de ADN înaintea furcii de replicare, aceste catene fiind împiedicate să se refacă, prin atașarea unor proteine de stabilizare a ADN monocatenar.

Sinteza acizilor nucleici

Sinteza ADN



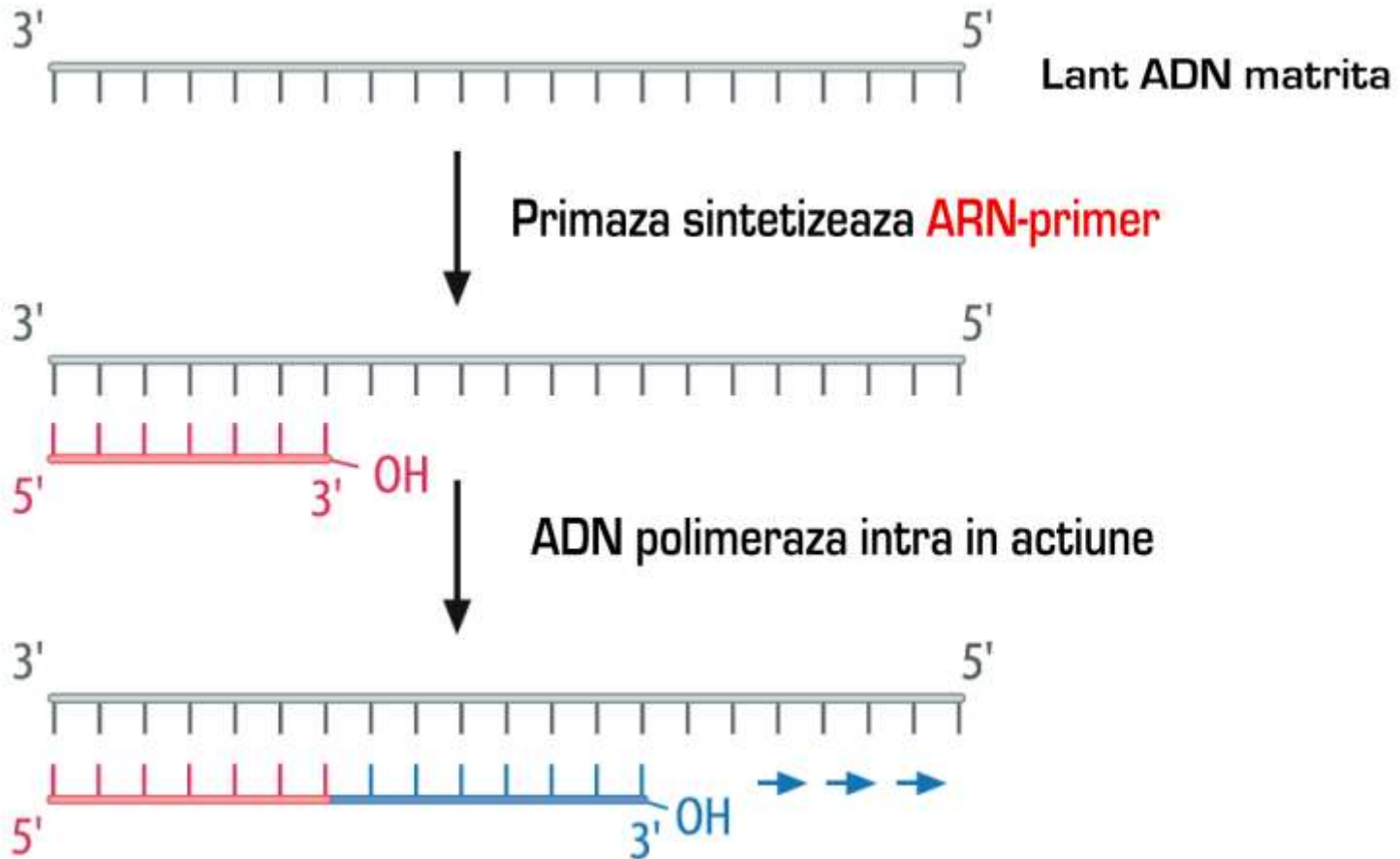
Sinteza acizilor nucleici

Sinteza ADN

- **Enzima majoră** implicată în replicarea ADN este **ADN polimeraza** care copiază catena primară (matrice) cu direcția **3' → 5'**, în direcția **5' → 3'**.
- Pentru aceasta sunt necesare “cărămizile” de baza (dezoxiribonucleotid trifosfații) și o secvență de ribonucleotide (ARN) numită ARN primer care să inițieze sinteza prin legarea la catenele parentale și oferirea capătului 3'-OH liber.

Sinteza acizilor nucleici

Sinteza ADN



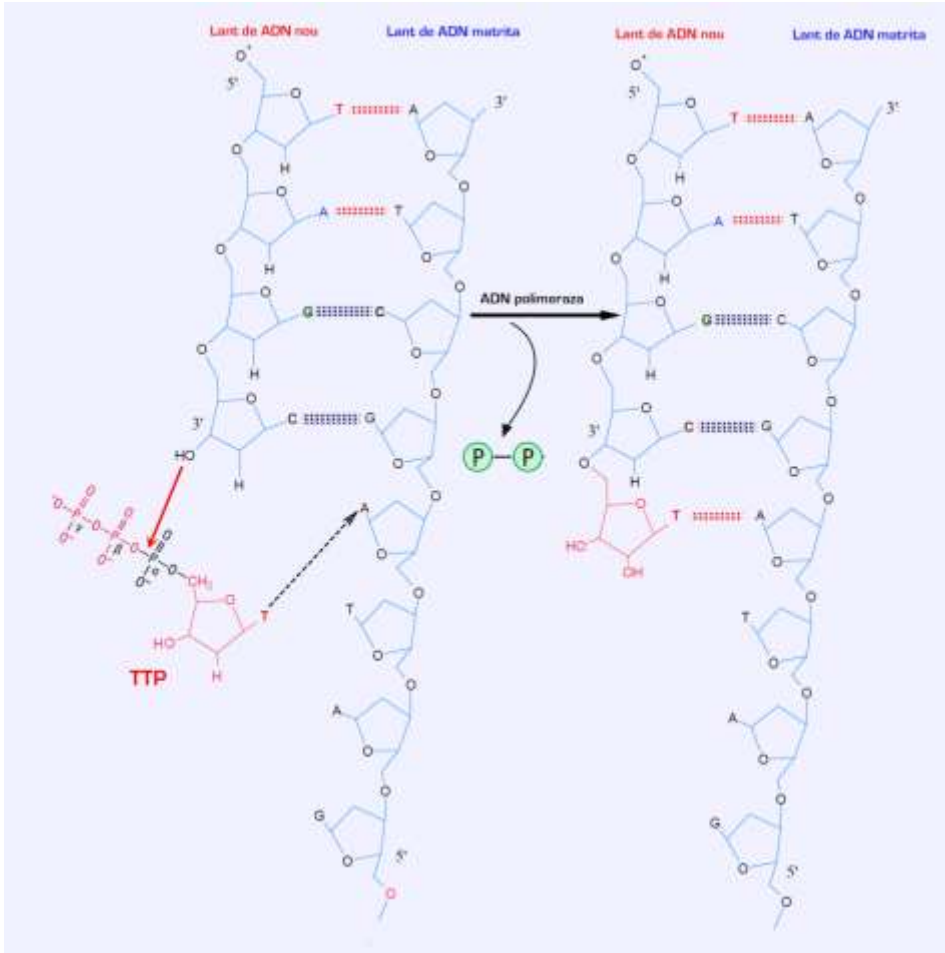
Sinteza acizilor nucleici

Sinteza ADN

- Primerul ARN este sintetizat de o enzimă specifică, **ADN primaza**.
- În faza următoare ADN-polimeraza atașează dezoxiribonucleotidele la capătul 3' al primerului ARN, acesta fiind în final îndepărtat și înlocuit de dezoxiribonucleotide.

Sinteza acizilor nucleici

Sinteza ADN



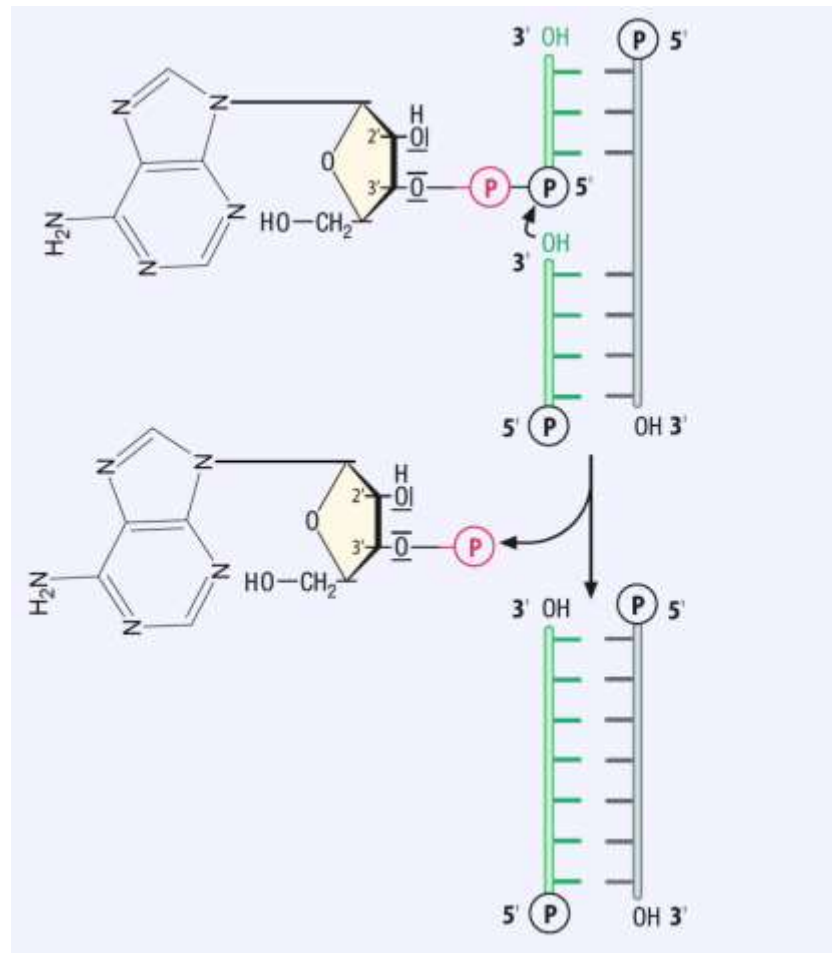
Sinteza acizilor nucleici

Sinteza ADN

- O catenă este sintetizată continuu “leading strand”, pe care o denumim **catena primară** iar cealaltă este sintetizată în fragmente (fragmente Okazaki) “lagging strand” pe care o **denumim secundară**, ce sunt apoi unite de ADN ligaza.

Sinteza acizilor nucleici

Sinteza ADN



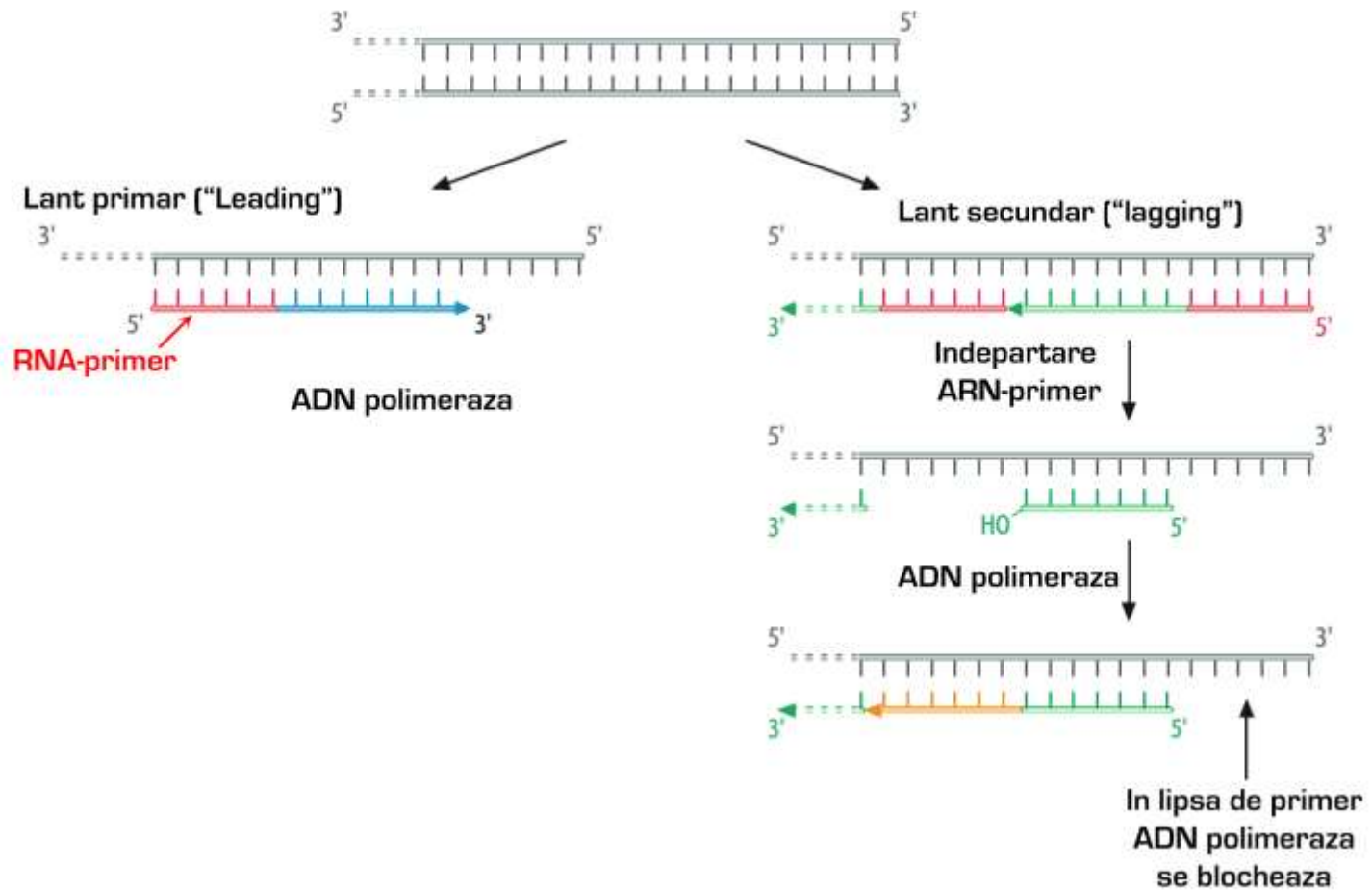
Sinteza acizilor nucleici

Telomerii și telomeraza

- Atunci când replicarea se apropie de finalul catenei, o problemă care apare este rămânerea în urma a catenei, deoarece primazele (enzime care sintetizează primerul) nu își pot exercita funcția până la capătul catenei de ADN (matriță) datorită faptului că la sfârșitul replicării, primerul de la capătul final este îndepărtat și prin urmare ADN polimeraza în lipsa primerului de ARN, este blocată.
- Rezultatul este un cromozom mai scurt la capătul 3'.

Sinteza acizilor nucleici

Telomerii și telomeraza



Sinteza acizilor nucleici

Telomerii și telomeraza

- **Telomerii** (telos-sfârșit și melos-parte) sunt secvențe repetitive de ADN aranjate în tandem, TTAGGG în catena primara (“leading strand”) și CCCTAA în catena secundara (“lagging strand”) care se găsesc la capătul terminal al cromozomilor.
- Telomerii și telomerazele rezolvă această problemă.
- Telomerii sunt compuși din secvențe repetitive de ADN dispuse la capătul terminal al cromozomilor protejate de un grup de proteine denumite “*shelterin*”.

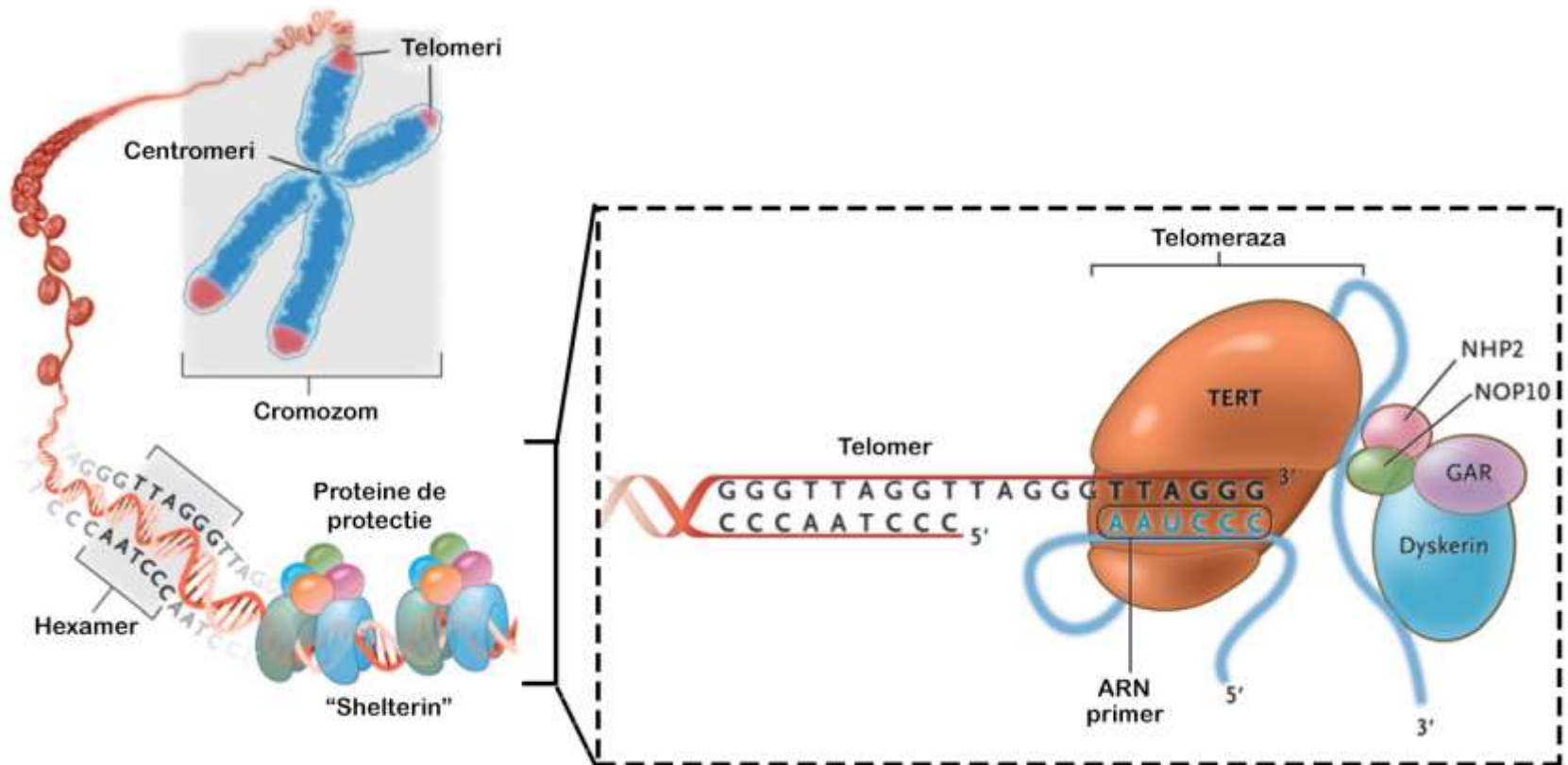
Sinteza acizilor nucleici

Telomerii și telomeraza

- O secvență monocatenară este generată prin adiția catalitică a telomerazei la capătul 3' și prelucrarea postreplicativă a componentelor rămase în urmă.
- Proteinele shelterin care acoperă secvența de ADN telomeric, servesc drept semnal molecular pentru a preveni complexul implicat în repararea ADN, să nu confunde telomerii cu goluri de ADN-dublucatenar.

Sinteza acizilor nucleici

Telomerii și telomeraza



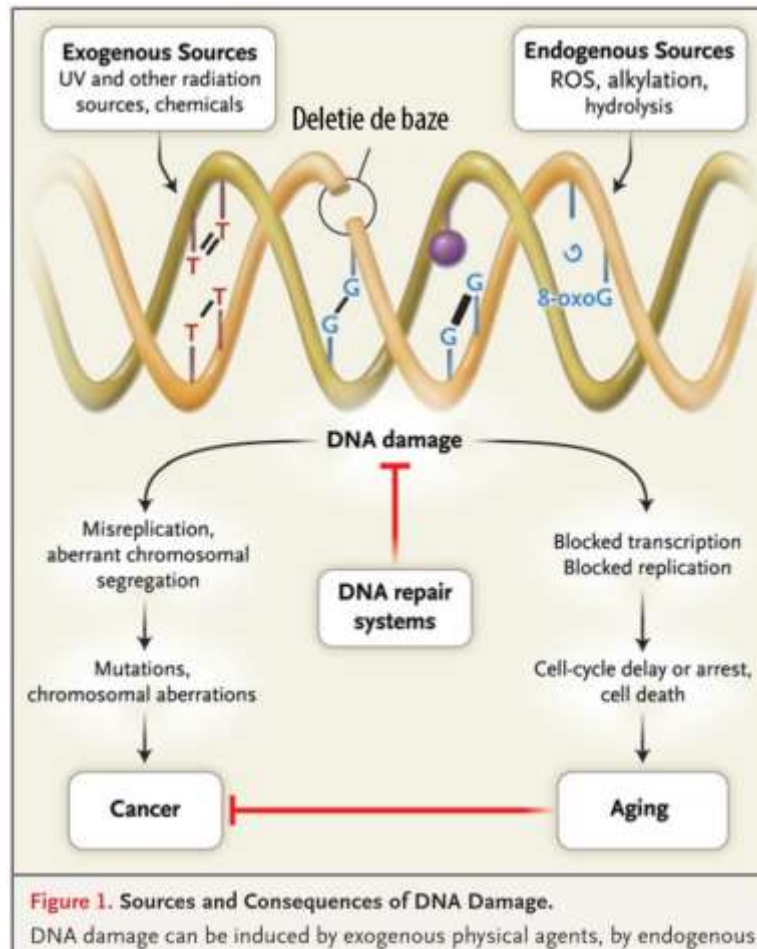
Repararea ADN

- Modificări în compoziția și structura bazelor care formează ADN-ul din celulele corpului uman s-au dovedit a fi un factor de risc major pentru sănătatea individului, fiind asociate cu cancerul și îmbătrânirea.

Repararea ADN

- Al doilea factor major care contribuie la **modificări în compoziția și structura bazelor din ADN** este chiar propriul metabolism care generează pe lângă energie și substanțe utile și produși nocivi cum ar fi radicali de oxigen și azot liberi, lipide peroxidate, agenți de alchilare sau specii carbonil extrem de reactive. .

Repararea ADN



Repararea ADN

- Frecvența greșelilor care apar în timpul replicării ADN este extraordinar de mică, 1:10⁷.
- Majoritatea greșelilor care apar în timpul procesului de copiere de către ADN polimeraza sunt corectate imediat.

Repararea secvențelor de încorporare eronată

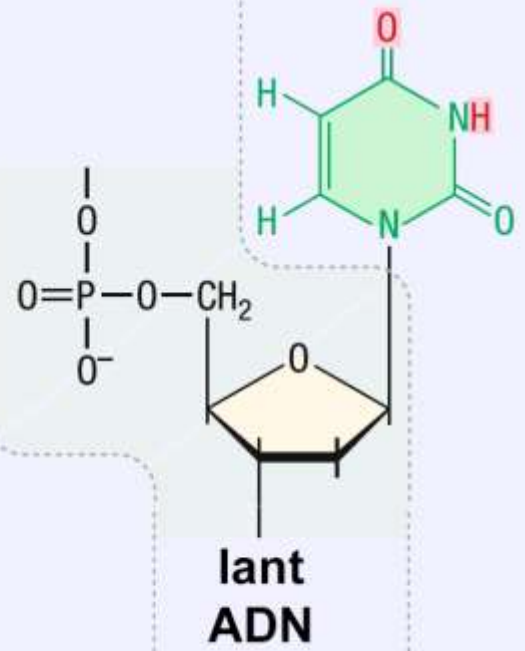
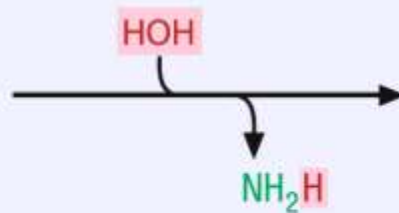
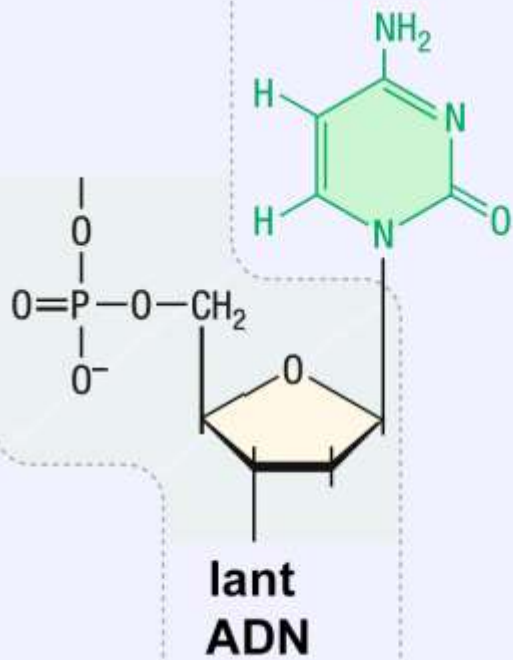
- “mismatch repair” și este un sistem de recunoaștere și reparare a bazelor încorporate greșit în timpul replicării sau recombinării AD.
- “mismatch repair” include perechile de baze G/T și A/C .

- Mutatii neenzimatiche cauzate de **dezaminarea bazelor azotate**.
- Prin dezaminare **citozina** este transformată în **uracil**, baza care nu apare în mod normal în structura ADN și care poate să formeze legături de hidrogen cu adenina în locul legăturii normale dintre citozina și guanina.
- În mod normal, **uracilul** este îndepărtat de mecanismele de reparare și este înlocuit cu **citozina** prin mecanismul de reparare bazat pe excizia bazelor

Dezaminare

Citozina

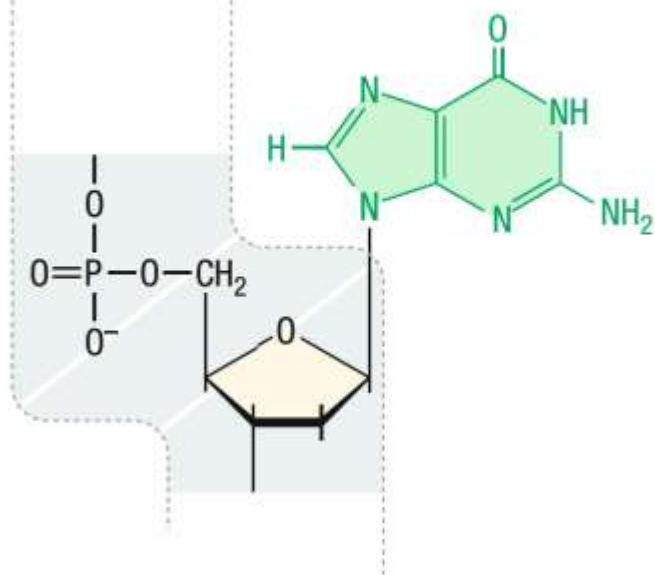
Uracil



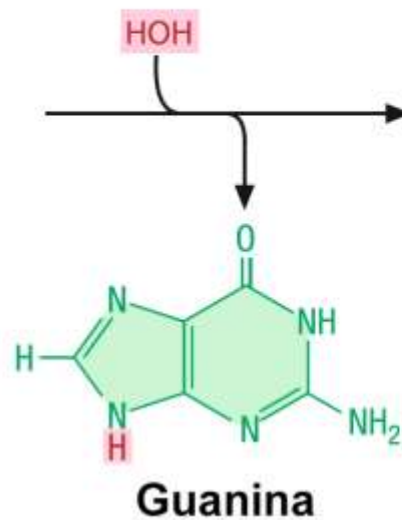
- Mutații neenzimatică cauzate de **depurinarea spontană** a unor baze azotate cum ar fi îndepărtarea guanozinei din lanțul de ADN.
- Astfel de procese hidrolitice au loc în mod normal la temperatura corpului la nivelul legăturii N-glicozidice dintre deoxiriboza și baza purinică

Lant ADN

Guanina

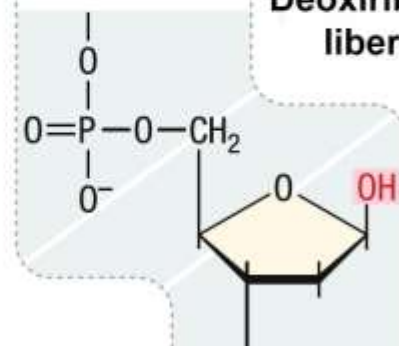


Depurinare



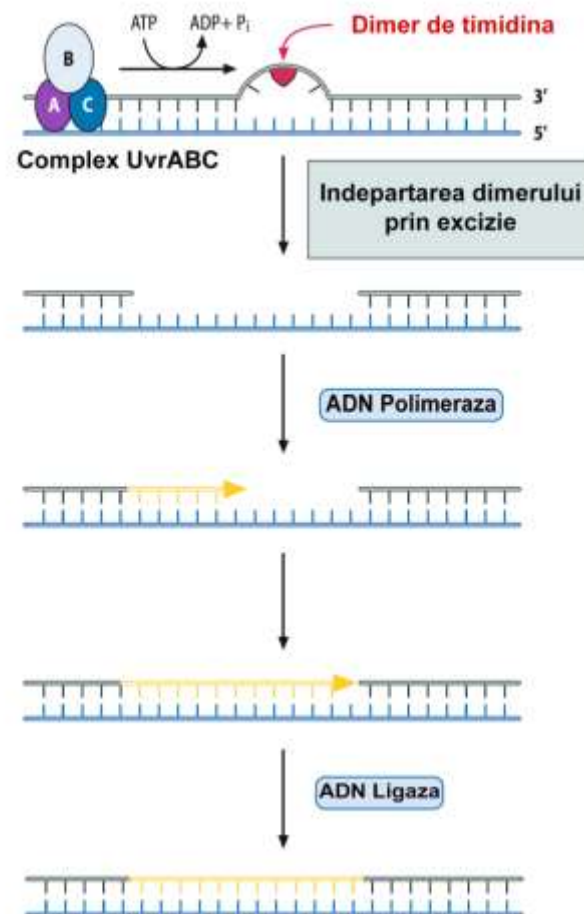
lant ADN

Deoxiriboza
libera

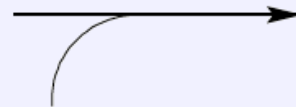
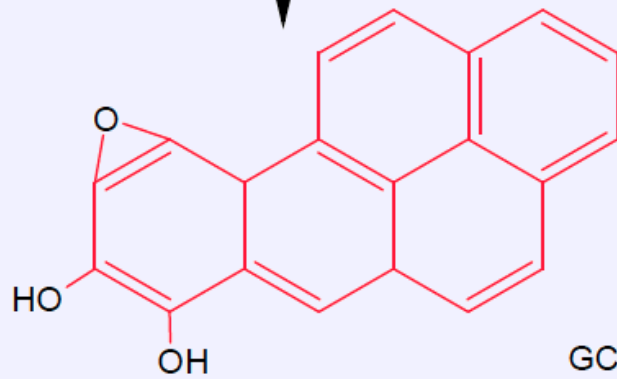
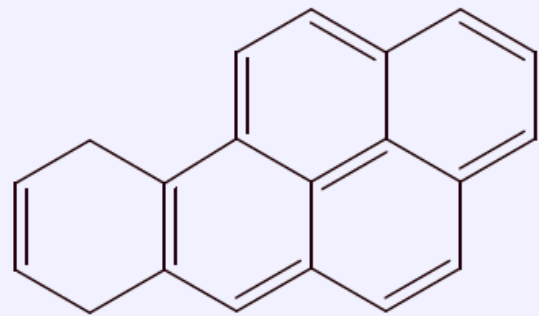


- Radiațiile UV determină schimbări în structura și compoziția ADN prin formarea dimerilor de timină.
- Expunerea la radiații ultraviolete poate duce la deteriorarea ADN-ului în celulele epidermice.
- Absorbția luminii cu energie ridicată duce la formarea dimerilor pirimidinici și anume dimeri ciclobutan-pirimidinici și fotocompuși pirimidin-6-4-pirimidonă.

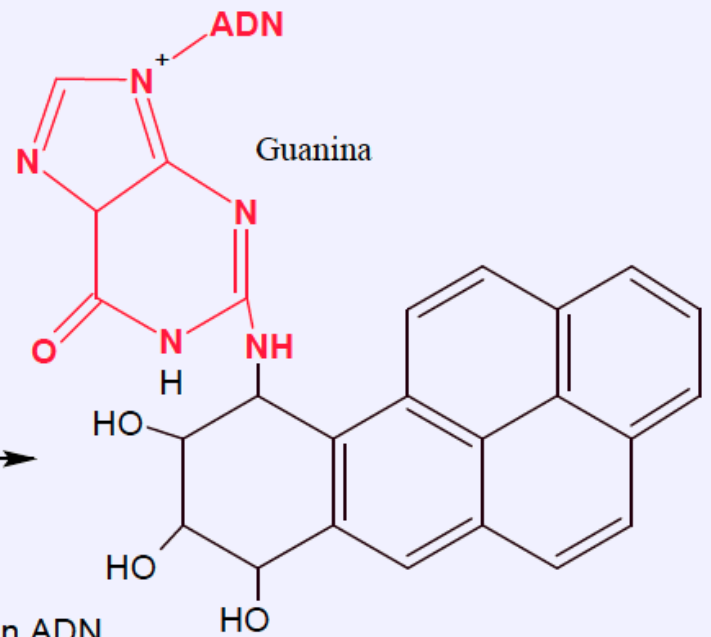
- În acest caz, secvența deteriorată este recunoscută datorită schimbării de conformație în structura ADN de către un complex proteic, UvrABC.
- În etapa următoare golul din lanțul de ADN este umplut de ADN polimeraza.
- Procesul de reparare este finalizat de ADN ligaza care încheie lanțul prin condensare la legătura fosfodiestică.



- Compuși chimici ce determină mutații la nivelul ADN - agenți mutageni.
- Un exemplu clasic este fumul de țigară care conține mutageni precum benzo[a]pirenul, o hidrocarbură aromatică policiclică.
- Benzo[a]pirenul ajuns în organism este oxidat și apoi legat covalent la resturile de guanină din structura ADN, alterând organizarea acestuia prin împiedicarea formării legăturilor între bazele pereche, G-C.
- Alți compuși cu potențial mutagen sunt precursori ai acidului nitric (nitrat de sodiu, nitrit de sodiu, nitrozamina) sau agenții alchilanți.

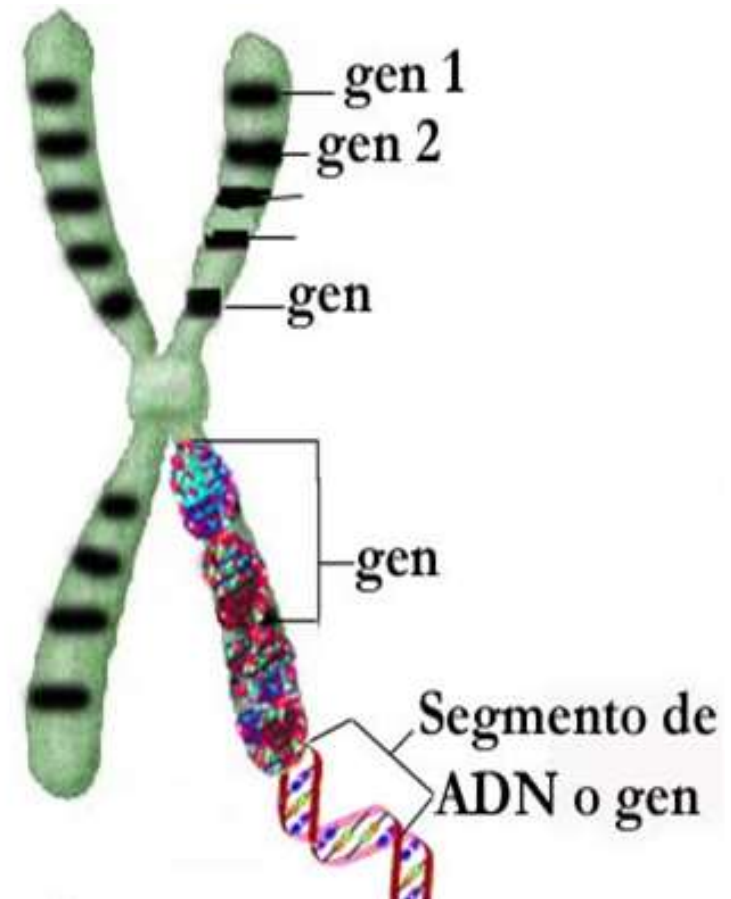


GC pereche de baze in ADN



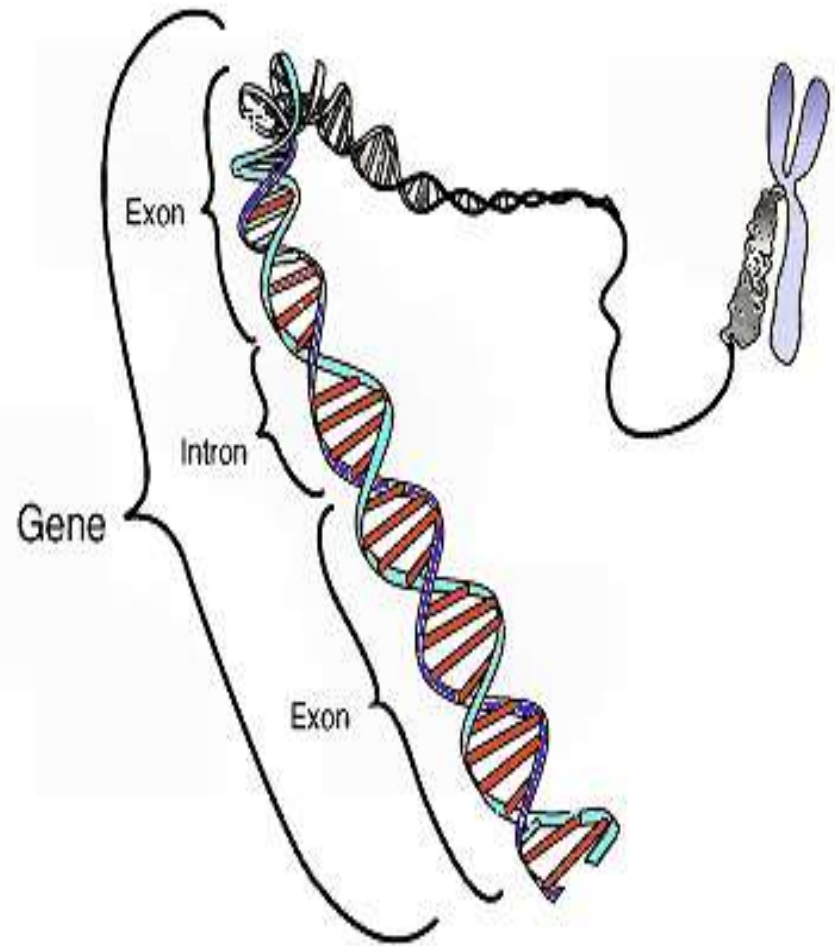
Gena

- O **genă** este unitate de bază responsabilă pentru deținerea și transmiterea a unei caracteristici unice, este o secvență de ADN ce transmite informația biologică într-o formă ce trebuie să poată fi copiată cu exactitate și transmisă de la celula mamă la celula fiică
- În accepțiune modernă, gena este definită ca un segment de pe cromozom precis delimitat, continuu, care determină un anumit caracter fenotipic
- Gena ocupă o poziție fixă în cromozom, întotdeauna aceeași, numită **locus**
- Gena este estimată că având o lungime în intervalul 50000 -100000 pb și nu reprezintă decât 3-5% din acest ansamblu. Restul de ADN este constituit din secvențele de reglare a expresiei genei, secvențe repetitive și secvențe cu funcții necunoscute.



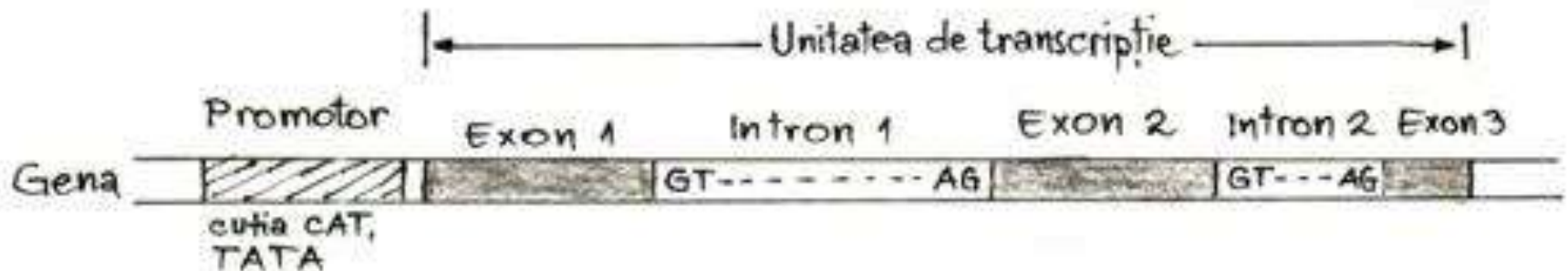
Structura genei

- Majoritatea genelor eucariote sunt formate din
- **exoni**, secvențe de nucleotide care codifică aminoacizii din proteine (secvențe cu capacitate de codare)
- **Introni**, secvențe mai lungi de nucleotide noninformationale (secvențe fără capacitate de codare)



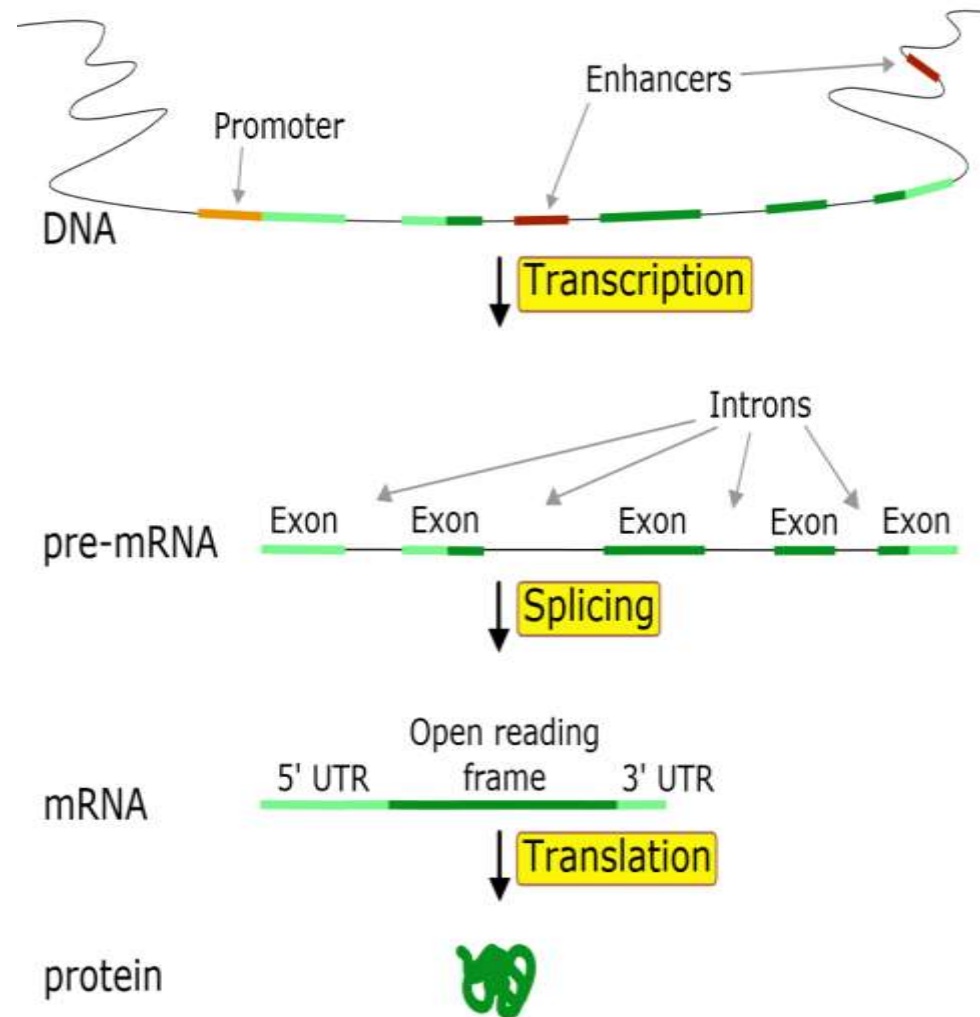
Structura genei

- Genă structurală la eucariote este alcătuită din două regiuni:
- **Regiunea transcriptibilă:** la marea majoritatea genelor este discontinuă (spliced genes). Aceasta discontinuitate rezultă din alternanța exonilor și a intronilor
- **Promotorul (regiune de reglare):** este un fragment din macromoleculă de ADN format din 200 pb situate tot în extremitatea 5' a genei, în fața codonului ATG și servește inițierii transcripției.



Structura genei

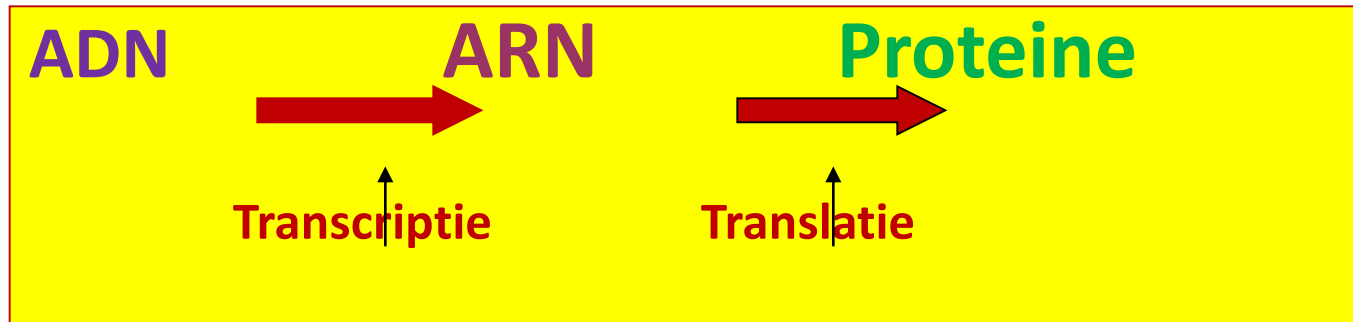
- Pentru a produce o proteină, întreaga lungime a unei gene (inclusiv intronii și exonii), este transcrisă într-o moleculă lungă de ARN (primul transcript).
- Înainte ca ARNul să părăsească nucleul, un complex de enzime îndepărtează toate secvențele de introni, producând secvențe de ARN mult mai scurte.
- După această etapă, moleculele de ARN părăsesc nucleul, trecând în citoplasma sub forma de molecule de ARNm, ce mai departe conduc la formarea proteinelor.
- Primele transcripte de ARN ale anumitor gene pot fi fragmentate în mai multe feluri pentru a produce diferiți ARNm, în funcție de tipul de celulă și de stadiul de dezvoltare.
- Acest lucru permite obținerea mai multor proteine pornind de la aceeași genă, numite izoforme



Dogma Centrală a Geneticii

A fost propusă în anul 1958 de către Francis Crick, pentru a descrie fluxul informației genetice în celulă.

Informația depozitată în ADN este transferată ARN-ului, care mai departe o transferă proteinelor.

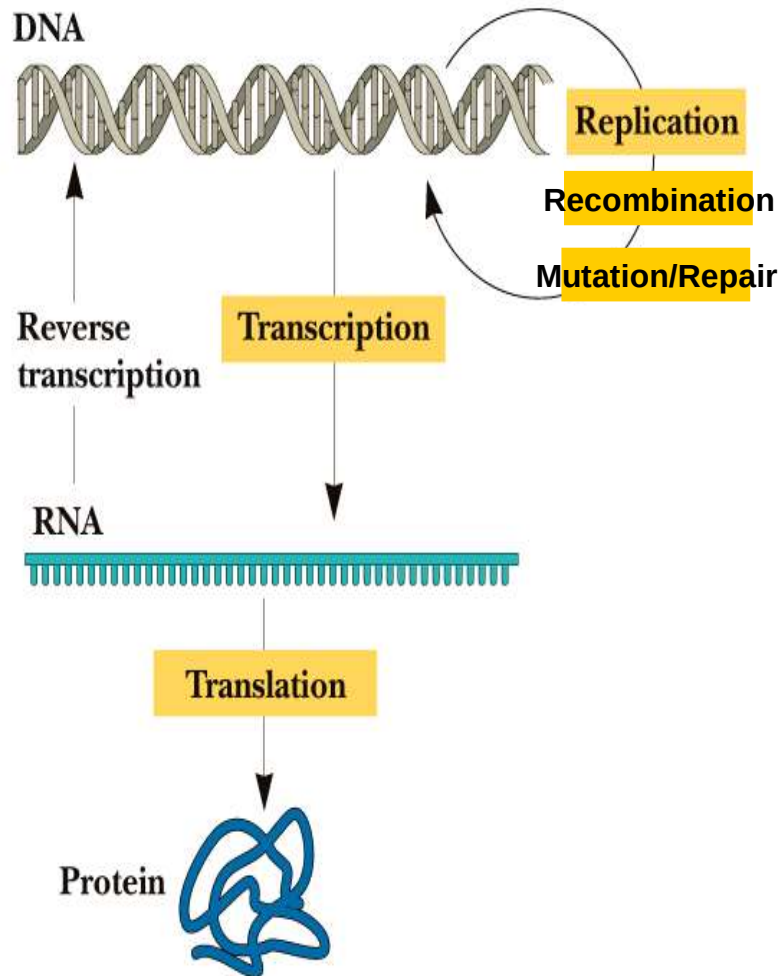


Transcripția = procesul prin care o parte din informația de pe ADN este copiată pe ARN (sinteză de ARN pe matrice de ADN, o genă → un ARN mesager).

Translație = procesul prin care informația din ARN este folosită la sinteza unei proteine în ribozomi (secvența de aminoacizi din proteine este codificată în structura ADN-ului)

Dogma Centrală Revizuită

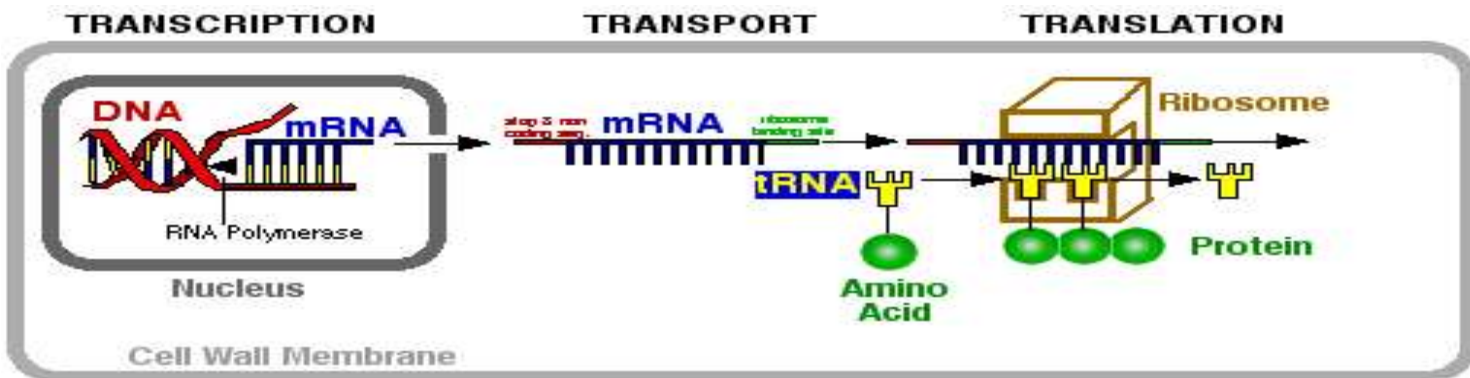
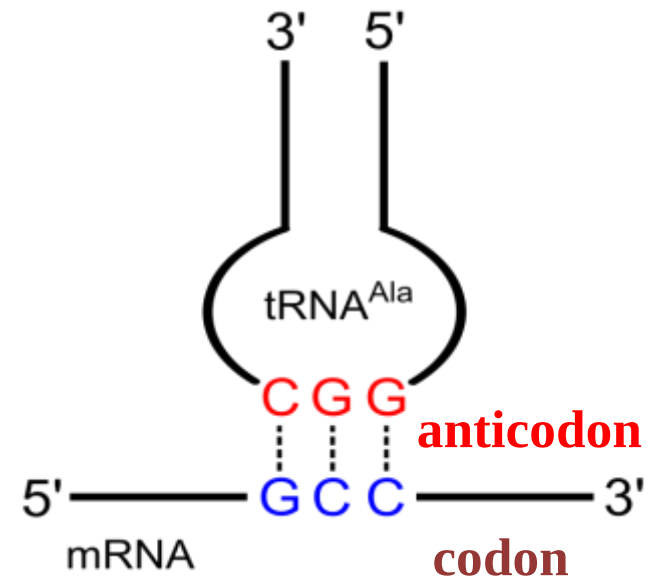
Dogma Centrală revizuită: Descoperirile din ultimii ani au completat dogma centrală, făcând-o mai complexă și mai apropiată de adevăr.



- **Recombinarea** = rearanjarea materialului genetic
- **Mutații/Reparare** = lezarea ADN cu alterarea informației genetice/ corectarea leziunilor ADN
- **Revers - transcrierea** = transferul informației genetice de la ARN la ADN

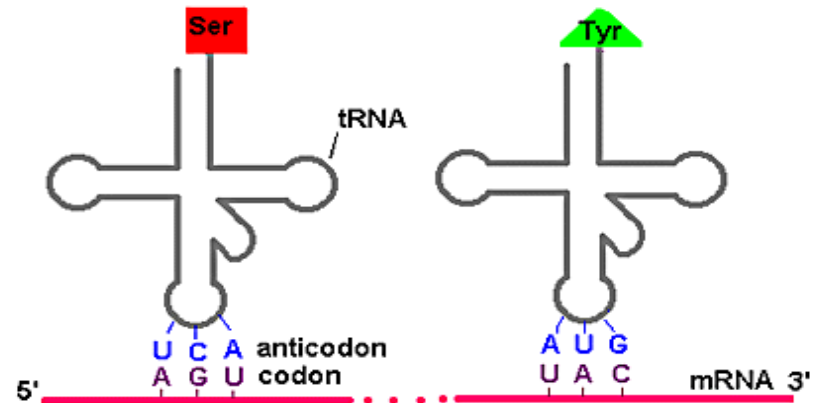
Codon - anticodon

- Legarea ARNt cu ARNm purtător al informației se face prin complementaritatea între 3 nucleotide existente pe fiecare din cele două molecule de ARN.
- Cele 3 nucleotide de ARNm constituie un **codon**, iar cele 3 nucleotide de ARNt reprezintă un **anticodon**.
- În cursul transducției anticodonul și codonul se leagă de maniera antiparalelă și aminoacidul purtat de ARNt este încorporat în proteină în procesul de sinteză.



Codul genetic

- **Codul genetic** este o secvență de codoni, care permite încorporarea specifică a unui aminoacid în sinteza unei proteine.
- Codul genetic este compus de 64 de codoni, 61 codoni pentru codificarea celor 20 de aminoacizi ce participă la sinteza proteinelor; 3 codoni sunt semnale de oprire (Stop) a sintezei.
- Fiecare aminoacid poate fi codificat prin mai mulți codoni (de la 1-6) care diferă în general prin a III-a nucleotidă, motiv pentru care se spune că este degenerat.
- În tabelul de *mai jos* sunt dați tripleții din ADN și ce proteină sintetizează fiecare.



		2nd base in codon				
		U	C	A	G	
1st base in codon	U	Phe Phe Leu Leu	Ser Ser Ser Ser	Tyr Tyr STOP STOP	Cys Cys STOP Trp	U C A G
	C	Leu Leu Leu Leu	Pro Pro Pro Pro	His His Gln Gln	Arg Arg Arg Arg	U C A G
	A	Ile Ile Ile Met	Thr Thr Thr Thr	Asn Asn Lys Lys	Ser Ser Arg Arg	U C A G
	G	Val Val Val Val	Ala Ala Ala Ala	Asp Asp Glu Glu	Gly Gly Gly Gly	U C A G
		3rd base in codon				

The Genetic Code www.accessexcellence.org/AB/GG/genetic.html