

## GENA

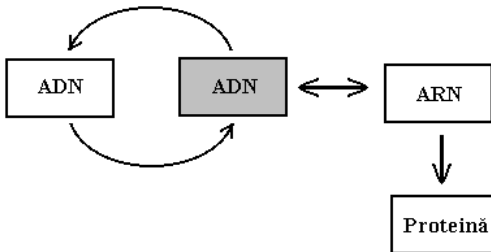
Prima ipoteză despre structura și funcția materialului genetic a fost formulată de *Gregor Mendel* (1865). Pentru a explica geneza unor caractere fenotipice ereditare și modul lor de transmitere la descendenți, el a presupus existența unor “factori ereditari”. Aceste elemente, care inițial erau pur ipotetice, au devenit, în timp, structuri reale, materiale. După descoperirea și descrierea cromozomilor (*Waldeyer, 1988*) *Boveri* și în special *Sutton (1902)* au emis și susținut ipoteza că factorii ereditari sau **genele** (după termenul introdus de *Wilhelm Johansen, 1903*) sunt părți din cromozomi. Această idee a fost confirmată de *Thomas Hunt Morgan* și colaboratorii săi (1910-1925). În felul acesta, gena încetează să mai fie o supoziție logică, abstractă, a geniului mendelian și capătă un conținut concret, material. Cercetările ulterioare au demonstrat natura chimică a cromozomilor și genelor. În 1944 *Oswald Avery* și colaboratorii săi au demonstrat că materialul genetic este reprezentat de molecula de ADN. În 1953 *Francis Crick* și *James Watson* au descoperit organizarea moleculară a ADN și au determinat că succesiunea de baze azotate (A, G, C, T) reprezintă codul genetic. Informația genetică perpetuează datorită replicării moleculelor de ADN și se realizează prin transcripția ARN și sinteza de proteine.

În concluzie, **gena** reprezintă un fragment din molecula de ADN care conține informația genetică despre sinteza unui

anumit tip de proteină sau a unei molecule de ARN. Grupul de gene alăturate, localizate într-un cromozom formează un **grup de înlănțuire (grup lincaj)**. În cadrul acestor grupări, gena ocupă o poziție delimitată de genele vecine. Gena nu este delimitată de granițe morfologice sau grupări chimice particulare. Ea are o delimitare funcțională, relevantă de semnificația mesajului genetic înscris.

### Funcția genei

Gena deține secvența de nucleotide ce controlează sinteza diferitor molecule de ARN (ARNm, ARNr, ARNt,



și a diferitor molecule de proteine. Fiecare genă are o succesiune specifică de baze, de regulă de pe ea se sintetizează un singur tip de ARN.

Complexitatea structurii și funcției organismelor vii este determinată de spectrul proteinelor pe care le conține. De aceea, organismele simple (de ex., bacteriile) conțin câteva sute de gene, iar organismele mai complexe - câteva zeci de mii de gene. În setul diploid de cromozomi umani se conțin circa 125000 de gene diferite.

Genele care codifică ARNm, tradus în lanțuri polipeptidice specifice, sunt denumite **gene structurale**. Pentru acestea se utilizează frecvent termenul de **cistron**. Genele care se transcriu independent poartă denumirea de **unități transcripționale monocistronice** (caracteristice pentru eucariote), iar mai multe gene ce se transcriu în comun – unități transcripționale **policistronice** (caracteristice procariotelor).

## Capitolul 8

Prin sinteza diferitor tipuri de proteine genele controlează structurile, funcțiile și proprietățile celulei și a organismului în întregime. Producții genelor, interacționând cu factorii de mediu, pot modula activitatea organismului pentru adaptarea lui în condițiile schimbătoare ale ambiantului.

Sub acțiunea factorilor de mediu genele își pot modifica structura chimică (apar gene mutante). Mutațiile determină apariția diferitor variante alelice ale uneia și aceleași gene care pot avea asupra fenotipului diferite efecte:

- neutre – apar variații individuale ale unuia și aceluiași caracter (grupele sanguine și serice la om);
- folositoare – gene de rezistență la anumite noxe;
- defavorabile – apar caractere patologice letale sau semiletale (de ex., deficiențe enzimatică și blocarea unor lanțuri metabolice).

Totalitatea genelor din setul diploid de cromozomi al unui individ se numește **genotip**. Totalitatea caracterelor și proprietăților individului controlate de genotip în interacțiune cu mediul se numește **fenotip**.

### Organizarea moleculară a genelor

Genele sunt formate din **regiunile transcrise** și **regiunile reglatoare** (fig. 8.1).

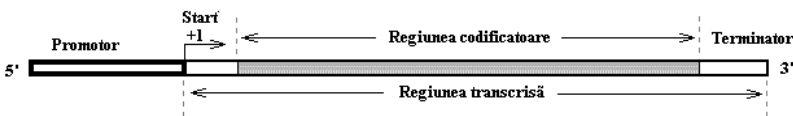


Fig. 8.1. Structura generală a genei

Fiecare genă (unitate de transcriere) conține **promotorul** – secvența recunoscută de ARN-polimeraza, care realizează transcrierea genei, sau a setului de gene. Promotorul este o secvență obligatorie și se găsește în aval de regiunea transcrisă

(la capătul 5') (gene pentru ARNm și ARNr) sau se conține în interiorul secvenței transcrise (gene pentru ARNt). Primul nucleotid incorporat în molecula de ARN este notat cu +1; nucleotidele din genă situate în fața punctului de inițiere a transcripției se notează cu (-), iar cele ce se găsesc spre capătul 3' – cu (+). Promotorul conține unele secvențe consens care se deosebesc la procariote și eucariote.

**Terminatorul** este plasat la sfârșitul unității transcripționale și reprezintă o secvență de nucleotide invertate, urmată de secvența TTTT. Secvența invertată copiată în molecula de ARN va condiționa formarea unei bucle, care stopează înaintarea ARN-polimerazei și determină terminarea procesului de transcripție. Terminatorul are o structură asemănătoare la procariote și eucariote (fig. 8.2).

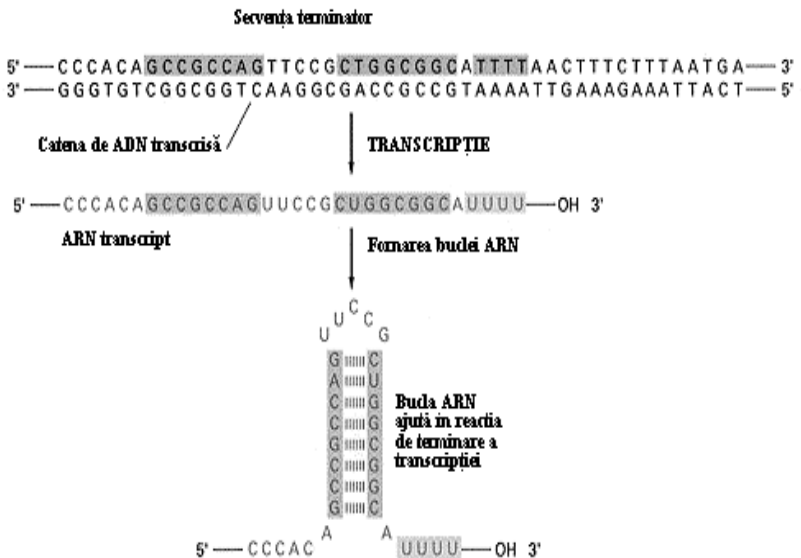


Fig. 8.2. Organizarea secvenței terminatorului genelor

## Particularitățile organizării genelor structurale la eucariote

**Promotorul** genelor eucariotelor constă dintr-un segment de câteva sute de nucleotide situate la extremitatea 5' a genei. Această regiune conține o combinație de **secvențe consens** ce constituie situsuri pentru factorii de transcripție (tab. 8.1). Promotorul genelor structurale, recunoscut de ARN-polimeraza II, prezintă la distanța de -20 – -30 nucleotide de la situsul de inițiere (+1) **boxa Goldberg-Hogness** sau **boxa TATA** la nivelul căreia se găsește secvența 5' TATA ATAAA-3'. Această secvență direcționează enzima ARN-polimeraza II spre situsul de inițiere al transcripției.

În poziția -75 se găsește **boxa CAAT**, caracterizată prin secvența 5'-GGCCAATCT-3'. Boxa CAAT controlează legarea proteinelor de inițiere a transcripției și eficiența acestui proces.

Mai proximal, la -90 nucleotide se găsește o altă secvență conservată – **boxa GC** cu succesiunea 5'-GGGCGG-3'. Boxa GC poate avea mai multe copii în promotor și intervine în direcționarea procesului de transcripție.

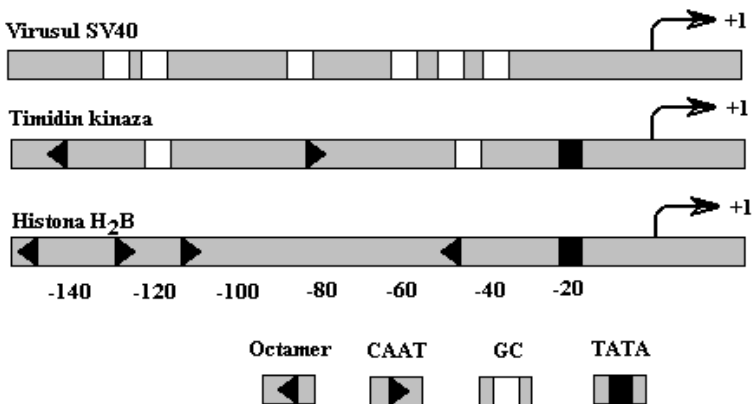


Fig. 8.3. Organizarea promotorilor diferitor gene ce activează în celulele eucariote

În afară de aceste boxe mai sunt și alte secvențe consens, ce se leagă de proteine reglatoare specifice pentru gena dată (fig. 8.3). Acestea sunt necesare pentru o expresie diferențiată a genelor în celule diferite și perioade diferite ale ciclului celular (de ex., genele pentru globină se transcriu doar în celulele precursorale ale eritrocitelor, gena pentru miozină –în celulele musculare, iar gena pentru insulină - în celulele specializate ale pancreasului etc.).

Tabelul 8.1. Caracteristica secvențelor consens din promotorii genelor structurale la eucariote

Boxa	Secvența	Poziția	Fragmentul de ADN acoperit	Factorii de transcripție corespunzători
TATA-box	TATAAAA	- 30	10 p.n.	TBP
CAAT-box	GGCCAATC T	- 75	22 p.n.	CTF/NF1
GC-box	GGGCGG	- 90	20 p.n.	SP1
Octamer	ATTTGCAT		20 p.n.	Oct1, Oct2

### Secvențe codificatoare

S-a demonstrat că la eucariote structura genei este discontinuă. Paradoxul valorii C confirmă că din totalul ADN-ului genomic doar o parte (10-15%) participă la sinteza proteinelor. Secvențele neinformaționale au rol diferit:

- separă genele (*spacieri*);
- se conțin în gene, dar nu sunt reprezentate în secvențele de aminoacizi (*introni*);
- au rol structural propriu-zis (telomeri, centromeri, sateliți).

S-a constatat o discordanță între dimensiune moleculei de ARNm, cu cea a ARN precursor (transcript primar) și dimensiunea secvenței de ADN care a servit ca matriță pentru transcripția ARN respectiv. P. Sharp (1977) a emis ipoteza structurii discontinue, sau în mozaic, a genei la eucariote.

## Capitolul 8

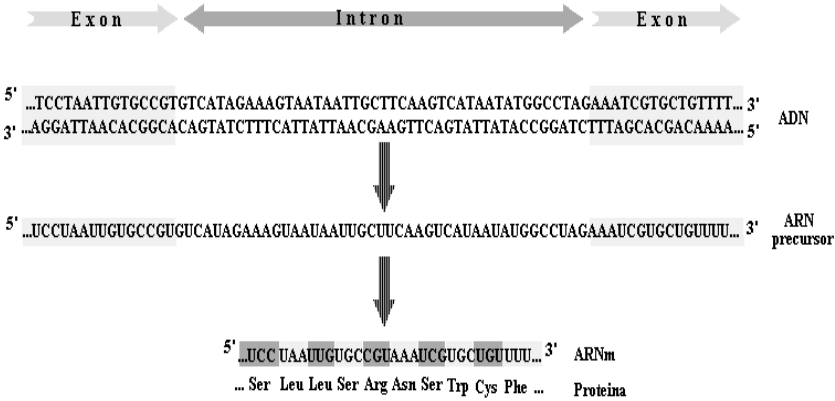


Fig. 8.4. Structura discontinuă (exon - intron) a secvenței codificatoare în genele eucariotelor

Exon 1	Intron 1	Exon 2	Intron 2	Exon 3
142-145 pb	116-130 pb	222 pb	573-904 pb	216-255 pb
Capătul 5' netranslat + aminoacizii 1-30	Aminoacizii 31-104			Aminoacidul 105 + capătul 3' netranslat

Fig. 8.5. Structura exon-intron a genei  $\beta$ -globinei și relația cu structura proteinei corespunzătoare



Regiunea transcriptibilă a genelor la eucariote cuprinde secvențe codificatoare denumite **exoni** și secvențe necodificatoare – **introni** (fig. 8.4). Numărul de exoni și introni este variabil și depinde de complexitatea proteinei pe care o codifică:

- gena  $\beta$ -globinei conține 3 exoni și 2 introni (fig. 8.5);
- gena pentru precolagen conține 51 exoni și 50 introni;
- gena pentru Hemofilia A conține 26 exoni și 25 introni (secvența de ADN constă din 180000 p.b., iar molecula ARNm respectiv are o lungime de doar 9000 b. și constituie 0,2%);
- gena care codifică distrofina conține mai mult de 25000000 pb, iar ARNm - doar 14000 b.

### Exonii

**Exonii** reprezintă secvențe codificatoare ale genei ce se transcriu, sunt prezenți în ARN precursor, în ARNm și se regăsesc în secvența de aminoacizi a proteinei (fig. 8.4). La capătul 5' al primului exon este o secvență scurtă de câteva zeci de nucleotide (**secvența lider**) cu rol de inițiere a translației care este urmată de codonul universal de inițiere a translației – **ATG**. La capătul 3' al ultimului exon se află unul din cei trei codoni de STOP informațional (TAA, TAG, TGA) ce determină terminarea sintezei proteinei și o secvență scurtă netranslată.

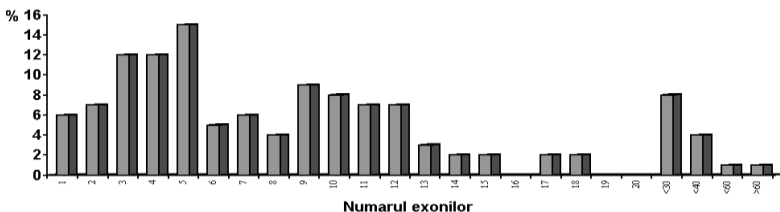


Fig. 8.6. Numărul exonilor la diferite gene ale vertebratelor

## Capitolul 8

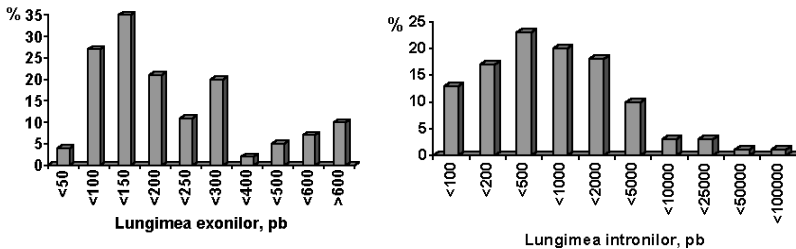


Fig. 8.7. Lungimea exonilor și intronilor la diferite gene ale mamiferelor

Numărul exonilor la diferite gene este diferit. În fig. 8.6. este reprezentată dependența dintre numărul de exoni și frecvența lor în genomul vertebratelor.

### Intronii

**Intronii** reprezintă secvențe necodificatoare ale genei ce se transcriu, sunt prezenți în ARN-precursor, dar nu sunt prezenți în ARNm (fig. 8.4). În timpul maturizării ARNm (*splicing*) intronii sunt eliminați din ARN-precursor.

Intronii au o lungime cuprinsă între 100 și 10000 pb și, de regulă, sunt mai lungi decât exonii (fig. 8.7). Majoritatea intronilor prezintă la extremitatea 5' secvența dinucleotidică **GT** iar la 3' **AG**, astfel sunt recunoscuți de enzimele ce îi înlătură în timpul *splicing*-ului.

Tabelul 8.2. Funcțiile intronilor

Conceptul clasic	Conceptul contemporan
Spațiatori ai exonilor Reziduuri ale evoluției ADN	Codifică biopolimeri Realizează autoclivarea ADN Participă la realizarea expresiei genelor

## Particularitățile organizării genelor pentru ARNr și ARNt la eucariote

Genele pentru ARNr (5,8S; 18S; 28S) sunt organizate într-o unitate de transcripție ce se repetă în tandem de câteva sute de ori și formează organizatorul nucleolar (fig. 8.8).

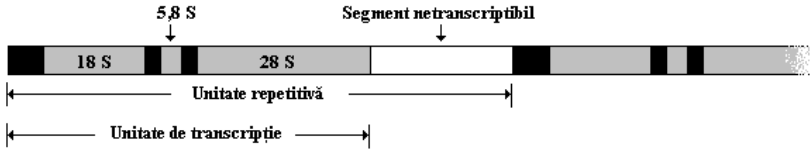


Fig. 8.8. Organizarea genelor pentru ARNr 5,8S, 18S, 28S

Fiecare unitate de transcripție este separată de unitățile vecine prin secvențe netranscriptibile - *spaceri*. Unitatea repetabilă conține ~12000 pb. Genele pentru ARNr de regulă nu conțin introni, excepție făcând genele protozoarelor. Promotorii genelor pentru ARNr au o varietate mică și sunt recunoscuți de enzima ARN-polimeraza I. Promotorii au o structură bipartită: o secvență de bază localizată în regiunea -45 – +20 ce controlează inițierea transcripției și un element de control proximal în regiunea -180 – -107 (UCE – upstream control element).

Genele pentru ARNr 5S sunt localizate în afara nucleolului și sunt transcrise de enzima ARN-polimeraza III. Aceste gene formează unități transcripționale în care gena pentru ARNr 5S se repetă în tandem. Promotorul este localizat în interiorul genelor în limitele +55 – +80.

Genele pentru ARNt, de asemenea, sunt organizate în unități transcripționale în care secvențele codificatoare sunt separate prin succesiuni necodificatoare. La drojdii genele pentru ARNt pot conține introni de 10-30 pb. Genele pentru ARNt sunt transcrise de ARN-polimeraza III, iar promotorul are o structură similară cu cea a genelor ARNr 5S.

## Particularitățile organizării genelor la procariote

Aparatul genetic al procariotelor este reprezentat de molecule circulare de ADN (nucleoid și plasmide). Genomul procariotelor conține puține secvențe necodificatoare. Genele se caracterizează printr-o structură mai simplă și sunt lipsite de introni. Deoarece metabolismul este intens și necesită modificări rapide în dependență de condițiile de moment ale mediului, majoritatea genelor implicate într-un lanț metabolic formează unități transcripționale numite *operoni*.

Operonul conține un singur promotor la capătul 5', mai multe gene structurale (numărul de gene structurale este egal cu numărul proteinelor implicate în procesul metabolic dat), iar la capătul 3' se află terminatorul (fig. 8.9). Unii operoni pot conține și alte secvențe reglatoare (secvențe operatorie, secvențe atenuatoare etc.).

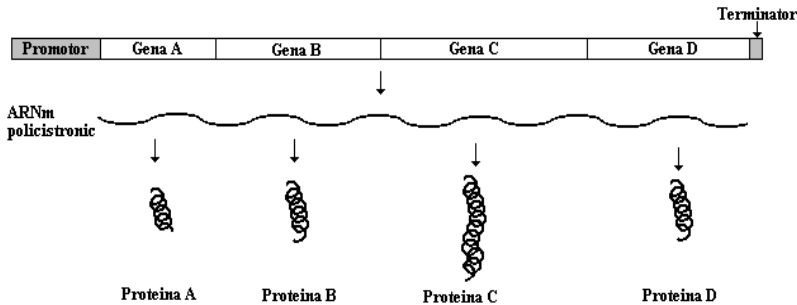


Fig. 8.9. Organizarea unui operon cu patru gene structurale

Promotorul la procariote conține secvențele specifice caracterizate prin *boxa Pribnow* în poziția -10, responsabilă de inițierea denaturării locale a ADN-ului și *boxa TTGACA* în poziția -35, la care are loc asocierea primară a ARN-polimerazei (fig. 8.10).

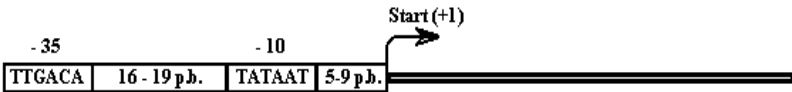


Fig. 8.10. Structura promotorului la procariote

Celelalte clase de gene (pentru ARNr, ARNt) sunt organizate în unități transcripționale mixte, separate prin *spaceri*. În fig. 8.11 este prezentată schema unui astfel de *cluster* de gene.

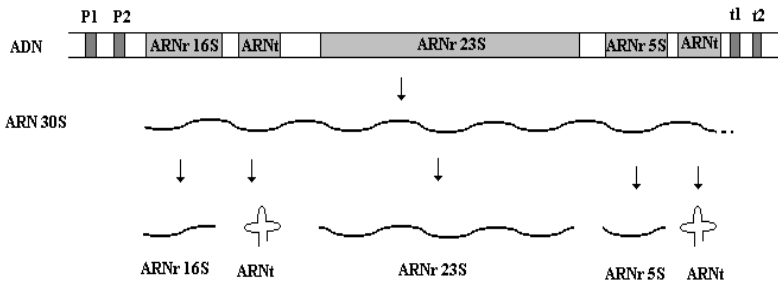


Fig. 8.11. Operonii genelor ARNt și ARNr la procariote

## Particularitățile organizării genomului uman

Genomul uman constă din ADN nuclear (98%) și ADN mitocondrial (2%). Genele acestor două sisteme interacționează între ele și controlează activitatea organismului uman prin controlul sintezei proteinelor de structură, enzimelor și proteinelor reglatoare.

### Genomul nuclear

Genomul nuclear al celulelor somatice este reprezentat de 46 molecule de ADN, ce corespund celor 46 de cromozomi monocromatidieni din setul diploid. În nucleul celulelor umane se conțin circa 125000 de gene. Acestea sunt repartizate de-a lungul cromozomului. Între gene sunt secvențe necodificatoare, reprezentate de *spaceri*, ADN-satelit. Fiecare cromozom conține

## Capitolul 8

În mediu 3000 de gene (fig. 8.12). Sub aspect funcțional genele nucleare pot fi clasificate în gene esențiale (comune pentru toate celulele organismului), gene ce intervin în specializarea celulelor și gene ce codifică proteinele reglatoare. De aceea, în diverse țesuturi sau etape ale ontogenezei se exprimă (se transcriu) un număr diferit de gene.

În genomul nuclear pot exista mai multe copii ale aceleași gene. Grupul de gene, exonii cărora sunt asemănători, codifică proteine cu secvență și proprietăți similare, derivate de la o genă ancestrală, se numește *familie de gene*. Familiile de gene pot fi repetitive, nerepetitive și pseudogene.

**Familiile de gene repetitive** - reprezintă repetări ale uneia și aceleași gene de mai multe ori per genom. Pot să funcționeze în același țesut simultan, sau în țesuturi diferite (genele pentru histone, ARNr, ARNt etc.).

**Familiile de gene nerepetitive** – sunt repetiții ale unor gene cu efect similar, dar care se deosebesc atât prin structură, cât și prin modul de acțiune (gene pentru globine, HLA etc.).

În fig. 8.13 este prezentată organizarea *clusterului* pentru  $\alpha$ -globine. Familia constă din patru gene funcționale ( $\zeta$ ,  $\alpha 1$ ,  $\alpha 2$ ,  $\theta$ ) și trei pseudogene ( $\psi\zeta$ ,  $\psi\alpha$ ,  $\psi\alpha$ ). Globina  $\zeta$  intră în compoziția hemoglobinei embrionare, iar globinele  $\alpha$  – în compoziția hemoglobinelor embrionare, fetale și la adult.

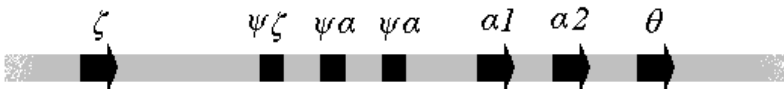


Fig. 8.13. Clusterul de gene al  $\alpha$ -globinei

**Pseudogene** – sunt secvențe rezultate prin duplicare, dar care nu funcționează. Sunt genele care “tac”. Ele acumulează mai multe mutații și pot rezulta peste o perioadă de timp ca membru nou al familiei, cu proprietăți distincte.

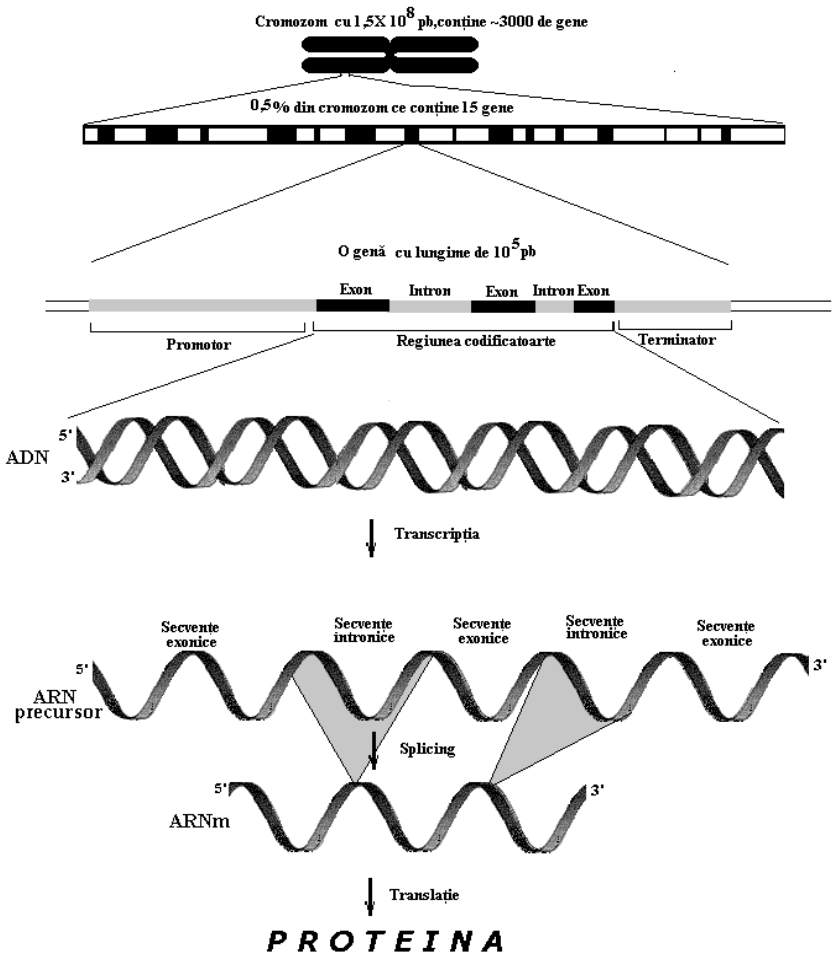


Fig. 8.12. Relația dintre localizarea, structura și funcția genelor în genomul uman

## Genomul mitocondrial

Genomul mitocondrial este reprezentat de molecule circulare de ADN cu lungimea de 16.6 kb. În fiecare mitocondrie se conține un număr variabil de molecule în dependență de necesitatea energetică a celulei. Aproape toate nucleotidele aparțin secvențelor codante, secvențele ADN cu funcții reglatoare fiind foarte mici (ADN mitocondrial al celulelor umane nu conține introni). Toate genele formează două unități transcripționale: una pe catena grea cu promotorul HSP și una pe catena ușoară LSP (fig. 8.14). ADN mitocondrial deține 13 gene structurale, două gene pentru ARNr și 22 gene pentru ARNt.

Genele structurale codifică enzimele implicate în metabolismul energetic. O genă pentru citocromul b (cit b), trei gene pentru subunitățile 1-3 ale citocrom-c-oxidazei (COI-III), șase gene pentru subunitățile 1-6 și 4L ale NADH dehidrogenazei (ND 1-6 și ND4L), două gene pentru subunitățile 6 și 8 ale ATP-sintetazei (A6 și A8) (fig.8.14).

Genele pentru ARNr controlează sinteza a două tipuri de molecule: ARNr 12S și 16S se asociază cu proteinele importate din citoplasmă la formarea ribosomilor.

ADN mitocondrial codifică doar 22 molecule de ARNt. De regulă, ARNt mitocondrial recunoaște specific doar primele două baze ale codonului din molecula de ARNm. A treia poziție a codonului poate fi ocupată de o altă bază din aceeași clasă (purinică sau pirimidinică).

Replicarea ADN mitocondrial nu este limitată la faza de sinteză a ciclului celular. Moleculele de ADN se replică aleatoriu, unele de două ori, iar altele - nici odată. Totuși, în fiecare ciclu celular, numărul moleculelor de ADN mitocondrial se dublează, menținându-se constantă cantitatea de ADNmt per celulă. Genele mitocondriale se transmit pe linie maternă.



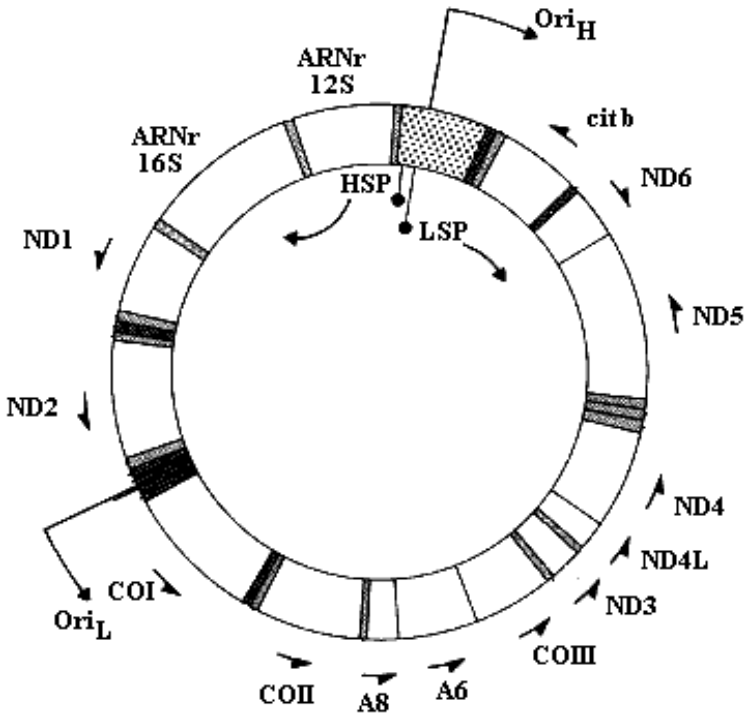


Fig. 8.14. Genomul mitocondrial uman. Săgețile indică direcția transcripției și replicației. Segmentele hașurate reprezintă genele ARNt

Cooperarea dintre genomul nuclear și cel mitocondrial constituie un factor esențial atât în funcția normală a celulei, cât și a mitocondriei. Circa 90 gene nucleare codifică proteine ce au rolul de susținere a sistemului genetic mitocondrial: proteine ribozomale, aminoacil-ARNt-sintetaze, ADN- și ARN-polimeraze, enzime implicate în procesarea și modificarea ARN, etc. O serie de proteine codificate de gene nucleare intervin în reglarea numărului de mitocondrii per celulă și a cantității de

## Capitolul 8

proteine sintetizate de aceste organite. Studii efectuate asupra complexelor enzimatiche din membrana mitocondrială internă au evidențiat faptul că acestea conțin subunități țesut-specifice ce acționează ca reglatori ai transportului de electroni și care sunt codificate de gene ce aparțin genomului nuclear.

### Transpozonii

Secvențele de ADN capabile să migreze de sine stătător și ocupa o nouă poziție în genom poartă denumirea de *elemente genetice migratoare* sau *transpozoni*. Cei mai simpli transpozoni au fost depistați la *E.coli* și constau din gena *transpozaza* flancată de elemente repetitive invertate. Ele formează o familie cu denumirea de **IS** (insertion sequences). De obicei ele se inserează în locuri țintă cu o secvență specifică pentru fiecare transpozon (des. 8.15).

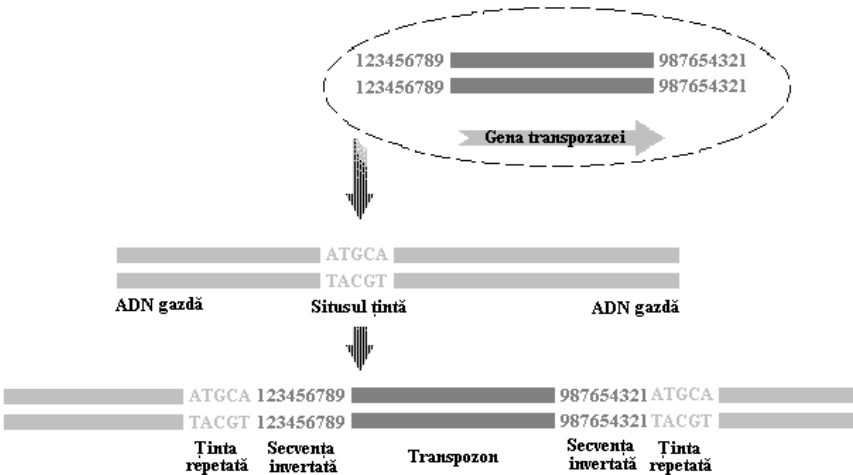


Fig. 8.15. Structura transpozonului de tip IS

Unii transpozoni poartă și alte gene, de exemplu gene de rezistență la antibiotice sau alte preparate medicamentoase. Din ei face parte familia **Tn** care conține o regiune centrală cu gene specifice, iar regiunile periferice sunt reprezentate de elemente **IS** (fig. 8.16).

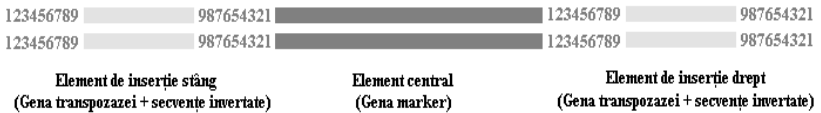


Fig. 8.16. Structura transpozonului Tn

Retrotranspozonii (de ex: **Ty**, *copia*, **Alu**) utilizează în mecanismul de transpoziție *reverstranscriptaza*, de aceea, în mod obligatoriu conțin gena pentru această enzimă, cât și gena *integrazei*, care participă la integrarea moleculei de cADN într-un alt loc. La capete retrotranspozonii conțin secvențe repetitive lungi – **LTR (long terminal repeat)** care asigură inserarea fragmentelor. Transpoziția poate fi de mai multe tipuri: transpoziție nereplicativă, transpoziție replicativă, transpoziție conservativă și retrotranspoziție (fig. 8.17).

**Transpoziția nereplicativă** constă în transferarea în întregime a unui fragment de ADN din poziția veche în una nouă, ca rezultat, adesea apar rupturi bicatenare ale moleculei inițiale. Cantitatea de ADN, totodată, nu se modifică.

**Transpoziția replicativă** se caracterizează prin replicarea transpozonului, după care copia obținută se transferă în loc nou. Ca rezultat cantitatea de ADN crește.

**Transpoziția conservativă** se caracterizează prin migrarea fragmentelor de ADN în întregime fără a cauza modificări în cantitatea de ADN și fără a produce rupturi.

Capitolul 8

**Retrotranspoziția** are loc în două etape. Mai întâi elementul migrator se transcrie, apoi de pe copia de ARN cu ajutorul *revertazei* (ADN-polimerază ARN-dependentă) are loc sinteza unei molecule complementare de ADN. Fragmentul nou format se integrează în locus nou. Ca efect are loc creșterea cantității de material genetic.

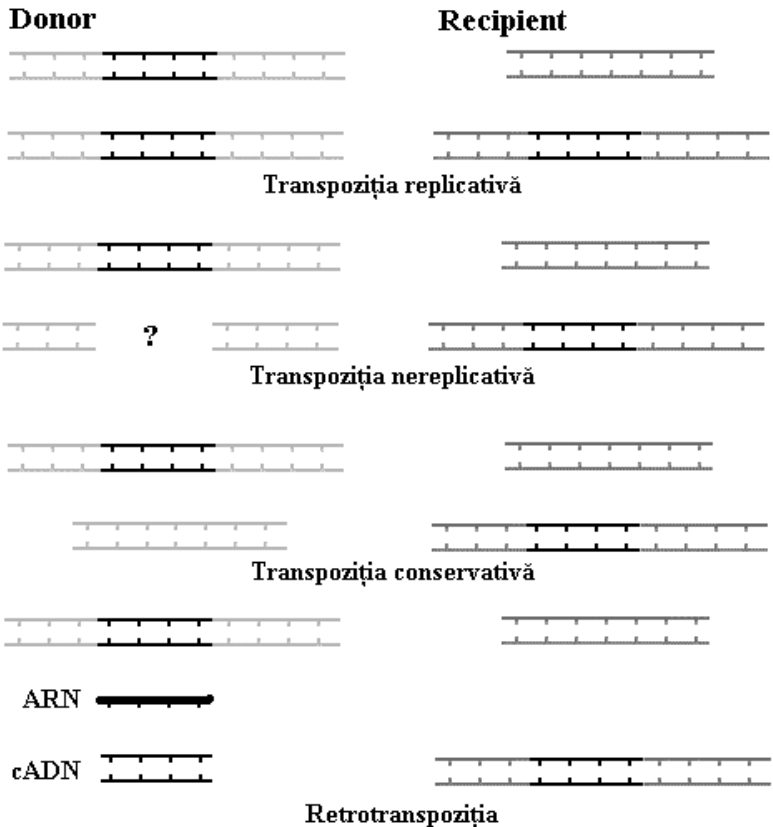


Fig. 8.17. Schema diferitor mecanisme de transpoziție

Transpozonii pot cauza mai multe rearanjări genomice dintre care cele mai importante sunt:

- ↳ translocarea poate provoca deleții sau întreruperi ale genelor, ceea ce cauzează inactivarea genelor;
- ↳ elementele migratoare servesc ca substrat pentru sistemele de recombinare celulară; două copii ale aceluiași transpozon în diferite poziții în cromozom pot cauza recunoașterea și împerecherea incorectă a cromozomilor pe parcursul crossing-overului.

### **Verificarea cunoștințelor:**

1. Definiți noțiunile: genă, genă structurală, cistron, promotor, exon, intron, operon, transpozon.
2. Care este structura generală a genelor?
3. Care sunt funcțiile secvențelor promotorilor la eucariote?
4. În ce constă structura mozaică a genelor?
5. Ce reprezintă operonul?
6. Care sunt particularitățile genomului mitocondrial?
7. Prin ce se deosebesc transpozonii IS, Tn și retrotranspozonii?