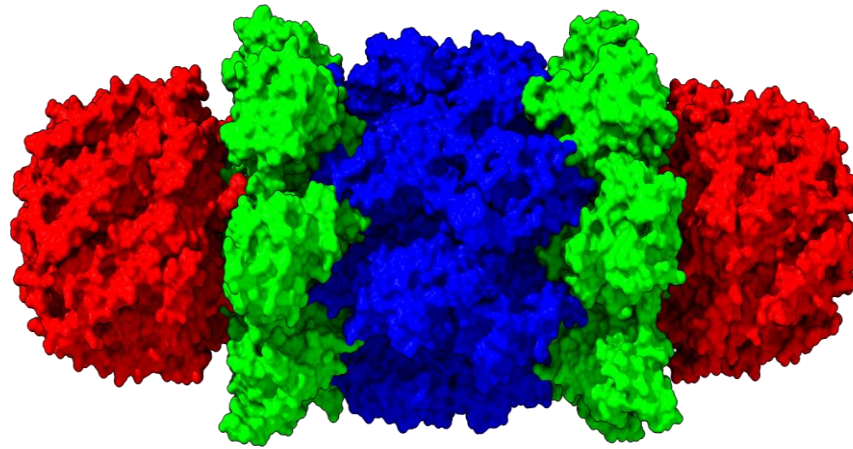
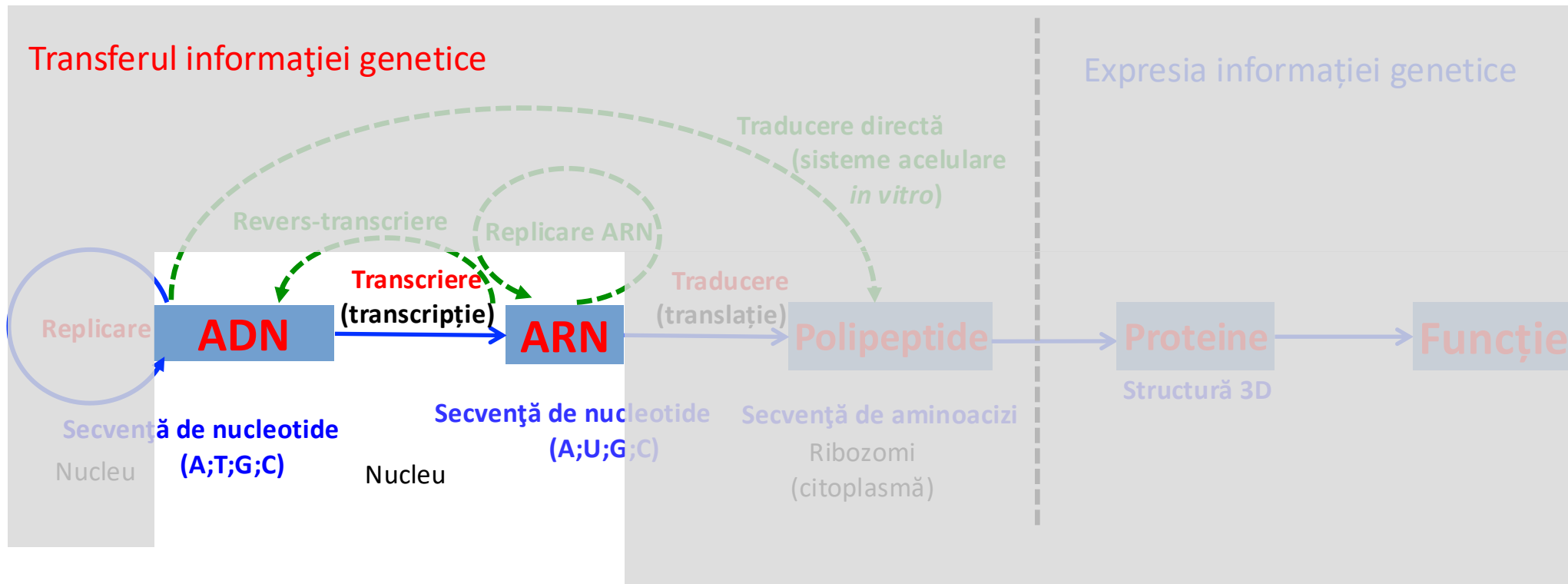
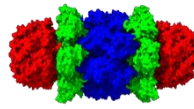
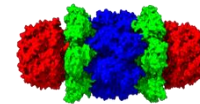




Capitolul III. Cum citesc celulele informația genetică - De la ADN la ARN





Expresia informației genetice stocate în ADN presupune realizarea a 2 procese distincte:

Transcrierea (**transcripția**, **transcription**, *engl.*) informației genetice

- procesul de **copiere** a informație genetice din molecula de ADN prin sinteza pe baza complementarității bazelor azotate a unei molecule de ARN. Sinteza este realizată de o **ARN-polimerază ADN dependentă**.
- informația este simultan copiată și transpusă **din limbajul ADN (A;T;G;C) în limbajul ARN (A;U;G;C)**
- are ca rezultat sinteza a trei tipuri distincte de ARN:

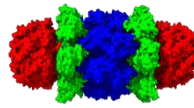
ARN ribozomal (ARN_r) – împreună cu proteinele ribozomale alcătuiesc **ribozomii**

ARN mesager (ARN_m) – copii ale secvenței de ADN ce asigură **transportul informației** din nucleu spre ribozom și **specifică ce aminoacizi vor fi încorporați** în structura catenei peptidice

ARN de transfer (ARN_t) – asigură atât **transportul aminoacizilor** din citosol în ribozomi cât și **poziționarea** corectă a acestora în catena polipeptidică

Traducerea (**translația**, **translation**, *engl.*) informației genetice

- procesul de convertire a secvenței de nucleotide din molecula de ARN_m într-o secvență de aminoacizi ce va forma catenă polipeptidică.
- Procesul are loc la nivelul ribosomilor (ARN_r) cu participarea activă a ARN_t (**detalii în cursul X**)



Sinteza ARN-ului se realizează prin copierea secvenței de nucleotide de pe una din catenele de ADN în cadrul procesului numit **transcriere** și realizat de enzima **ARN- polimerază**. Enzima catalizează formarea legăturilor fosfodiesterice între ribonucleotide și sinteza unei molecule de ARN pe baza complementarității cu o catenă de **ADN matriță**.

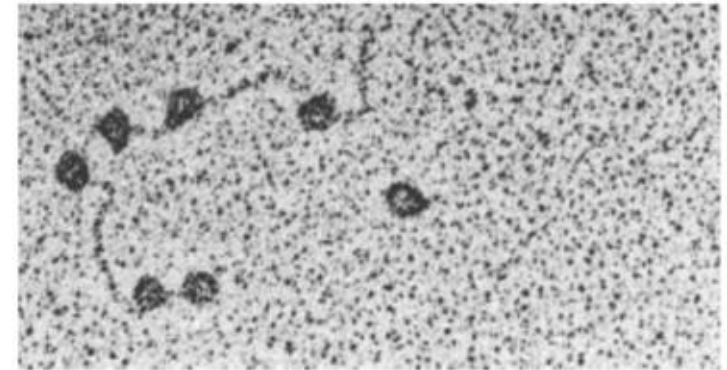
Catena matriță se numește **catenă antisens** (-). Catenă de ADN ce nu este folosită ca matriță are aceeași secvență cu a copiei ARN (T este înlocuit cu U) și se numește **catenă codificatoare** (sens sau +) deoarece conține informația genetică.

La *eucariote* au fost descrise 3 ARN-polimeraze distincte:

ARN – polimeraza I – transcrie regiunile ce codifică ARNr

ARN - polimeraza II – sintetizează ARNm

ARN – polimeraza III - transcrie regiunile ce codifică ARNt

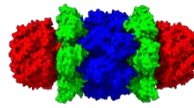


Indiferent de tipul de polimerază, inițierea transcrierii este dependentă de atașarea enzimei de catena ADN matriță la nivelul unei secvențe **promotor** amplasată pe catena de ADN **în amonte de locul de start al transcrierii**.

La *procariote*, **promotorul este alcătuit din 2 secvențe**:

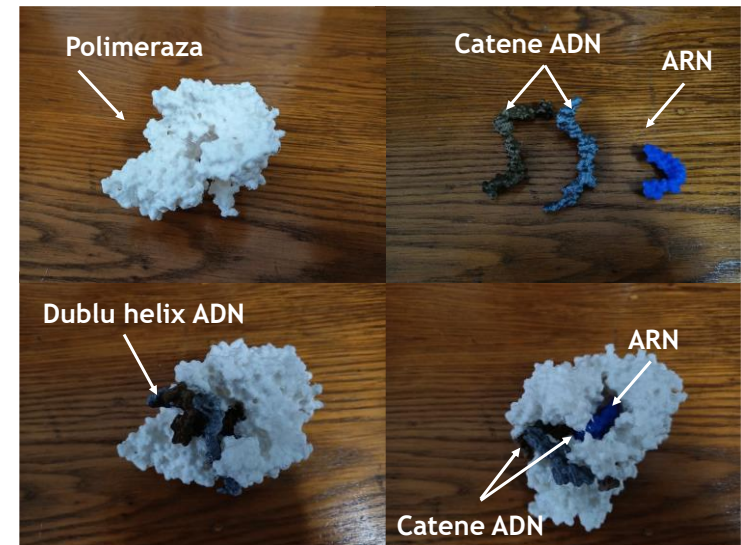
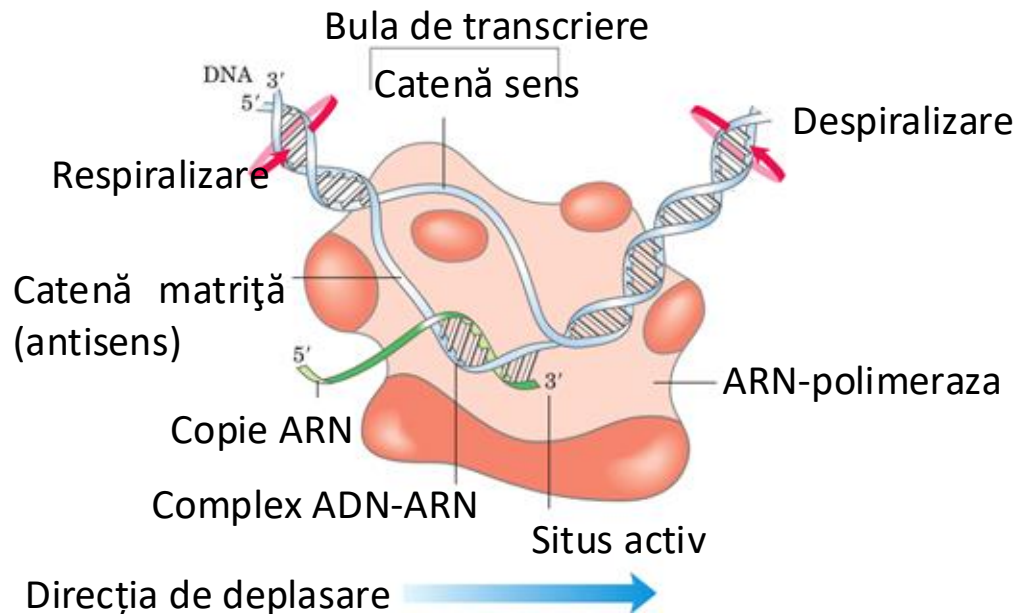
• **secvența „- 35”** - succesiunea de baze TTGACA amplasată cu **35 de nucleotide** înainte de locul de start al transcrierii;

• **secvența „- 10”** – succesiunea de baze TATAAT amplasată cu **10 de nucleotide** înainte de locul de start al transcrierii.

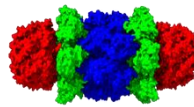


1. Inițierea – constă în recunoașterea de către subunitatea σ a secvenței **-10** a promotorului (TATA box la eucariote) și legarea ARN-polimerazei de promotor. Odată legată, enzima de-spiralizează dublul helix ADN pe o porțiune de aprox. **17 nucleotide** și expune cele două catene.

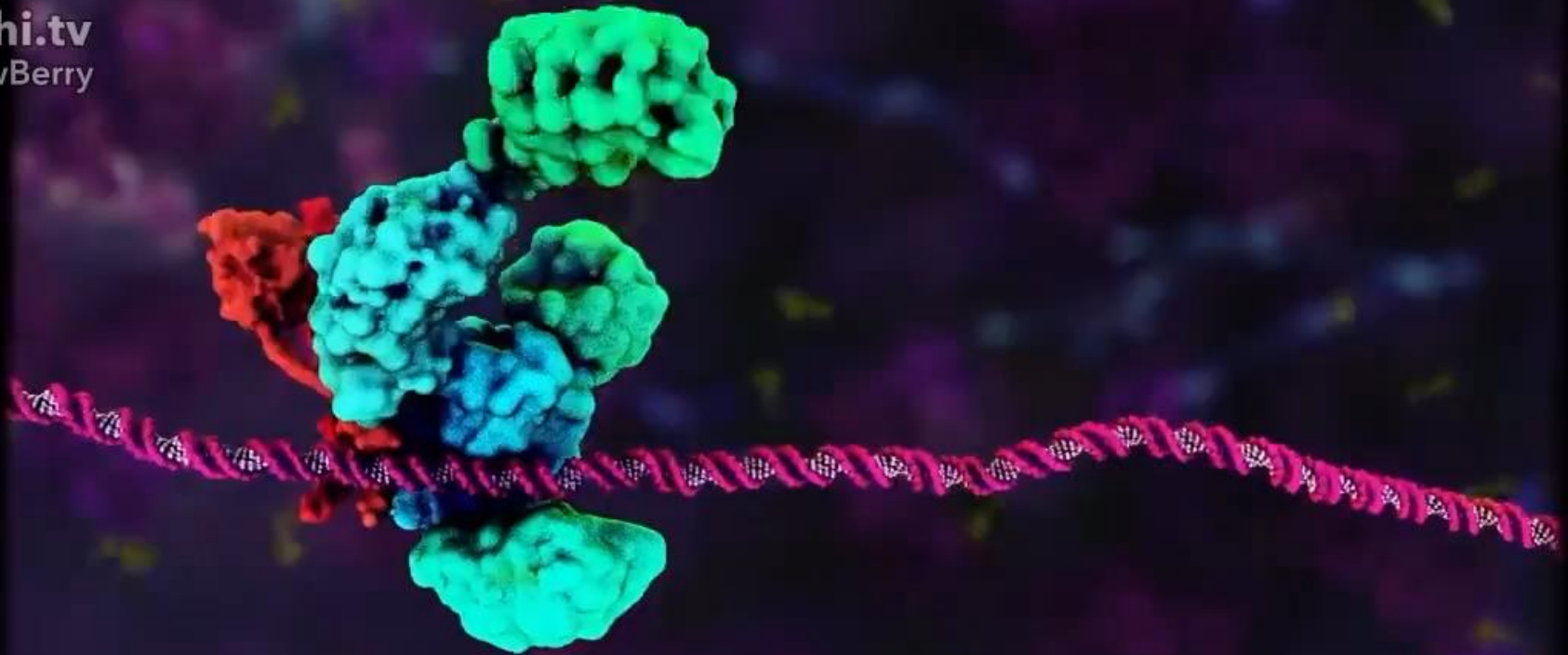
2. Elongarea – transcrierea propriu-zisă începe prin atașarea unei molecule de ATP sau GTP ce oferă un capăt 3' liber. De aici, pe baza complementarității **cu catena anti-sens** se sintetizează o catenă ARN în direcția 5'→3'. Ansamblul alcătuit din ARN-polimerază, porțiunea de ADN despiralizat și copia ARN alcătuiesc așa numita **bulă de transcriere**. În interiorul bulei, primele 8-12 baze ale copiei ARN formează temporar un dublu helix cu catena antisens. Bula de transcriere se mișcă de-a lungul catenei moleculei ADN cu viteza de 50-90 baze/sec.



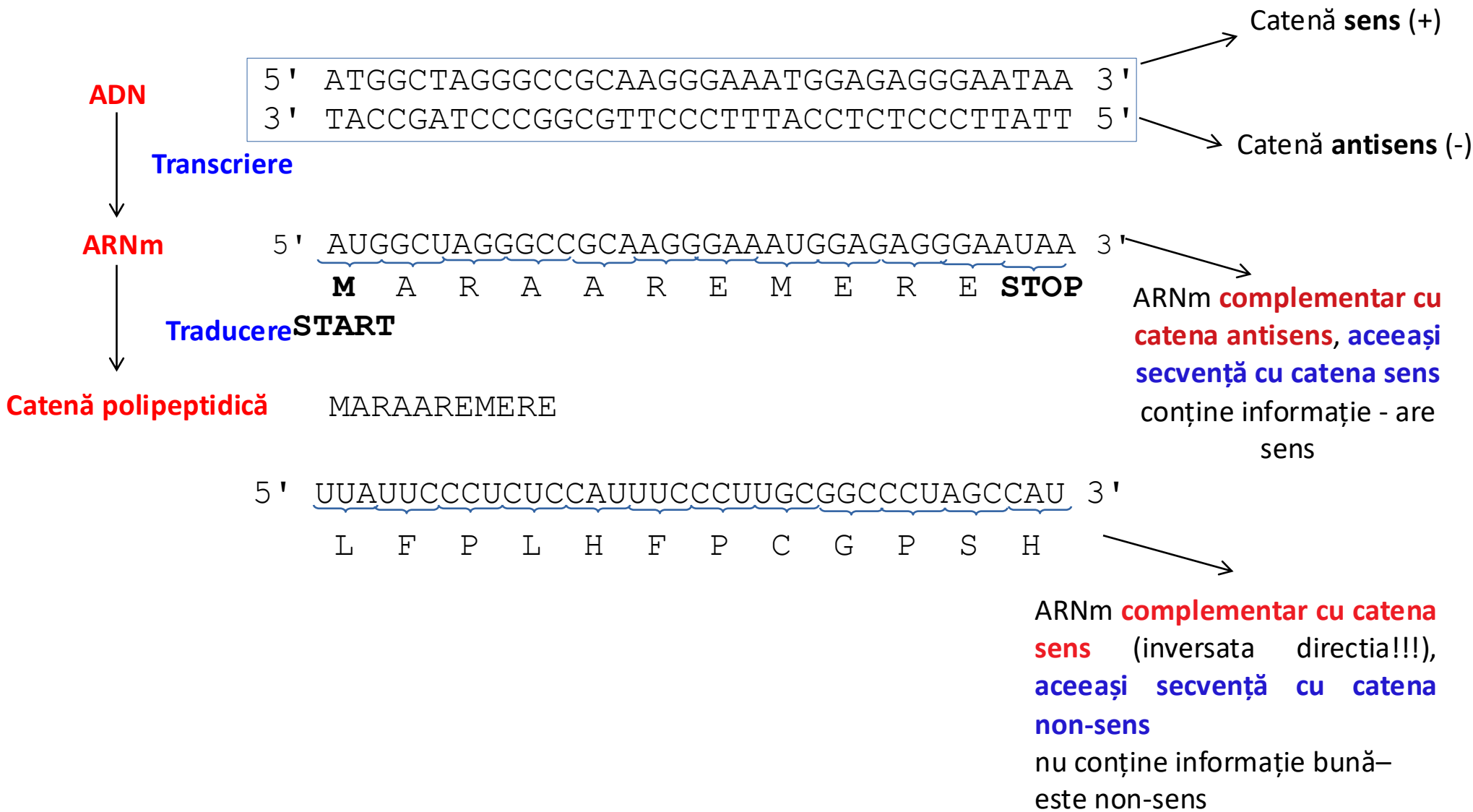
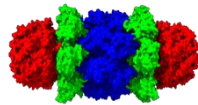
<https://modelele moleculare.ro/product/arn-polimeraza-t7/>



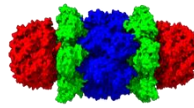
wehi.tv
DrewBerry



Catenă sens vs. catena antisens



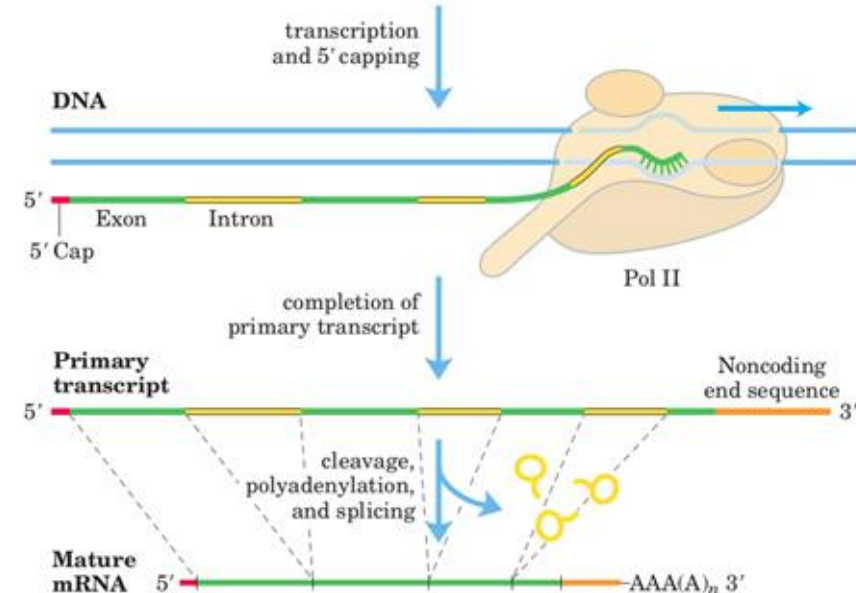
1. Procesarea la capătul 5' al ARNm



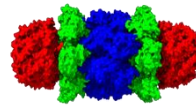
Molecula nou sintetizată de ARN reprezintă o **copie primară** ce este apoi modificată în mod specific printr-un proces numit **procesarea sau maturarea ARN-ului**. Modificările au în principal rolul de a proteja molecula de ARN de RN-azele celulare, dar și rol funcțional. Principalele tipuri de modificări post-transcriere ale ARN-ului sunt:

1. Adăugarea la capătul 5' al ARN_m a **7-metil-guanozinei** – **5' - cap**;
2. Adăugarea unei **cozi poliA** la capătul 3' al ARN_m – **poli(A) tail**;
3. **Splicing**-ul intronilor și exonilor în cazul ARN_m;
4. **modificarea chimică** a bazelor azotate în ARN_t și ARN_r

Modificările 1-3 sunt în general specifice eucariotelor, iar 4 apare EK și la PK



Modificări post-transcriere ale ARN-ului



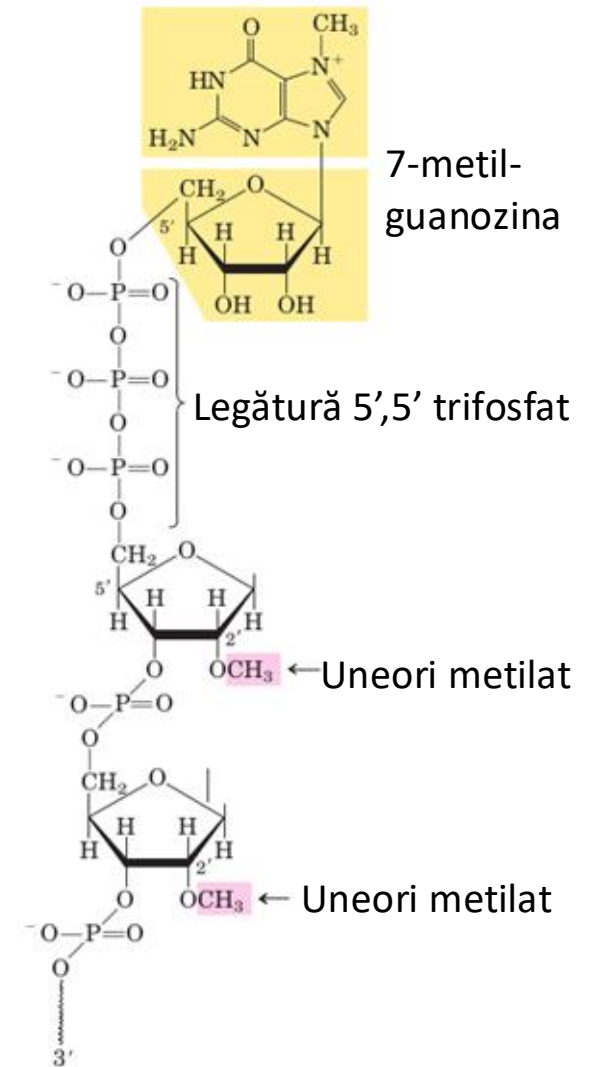
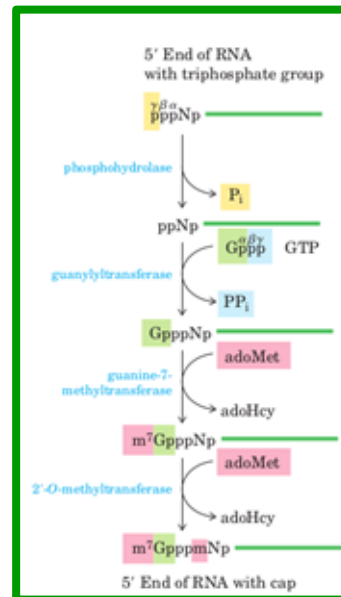
Majoritatea moleculelor de ARNm la EK au în capătul 5' un așa numit **5'-cap** alcătuit din:

1. un rest de **7-metil-guanozină legat printr-o legătură 5'5' trifosfat** de prima nucleotidă a catenei ARNm. Atașarea nucleotidei modificate se face printr-o reacție de condensare între GTP și fosfatul de la capătul 5' al catenei ARN, urmată de o metilare la N7.

2. În mod frecvent, dar nu întodeauna, din **grupe metil în pozițiile 2'** pentru **primele 2 nucleotide din copia ARN**.

Rolul modificărilor din 5':

- protejarea împotriva RN-azelor;
- recunoașterea de către ribozomi a ARNm ce trebuie tradus.



2. Procesarea la capătul 3' al ARNm

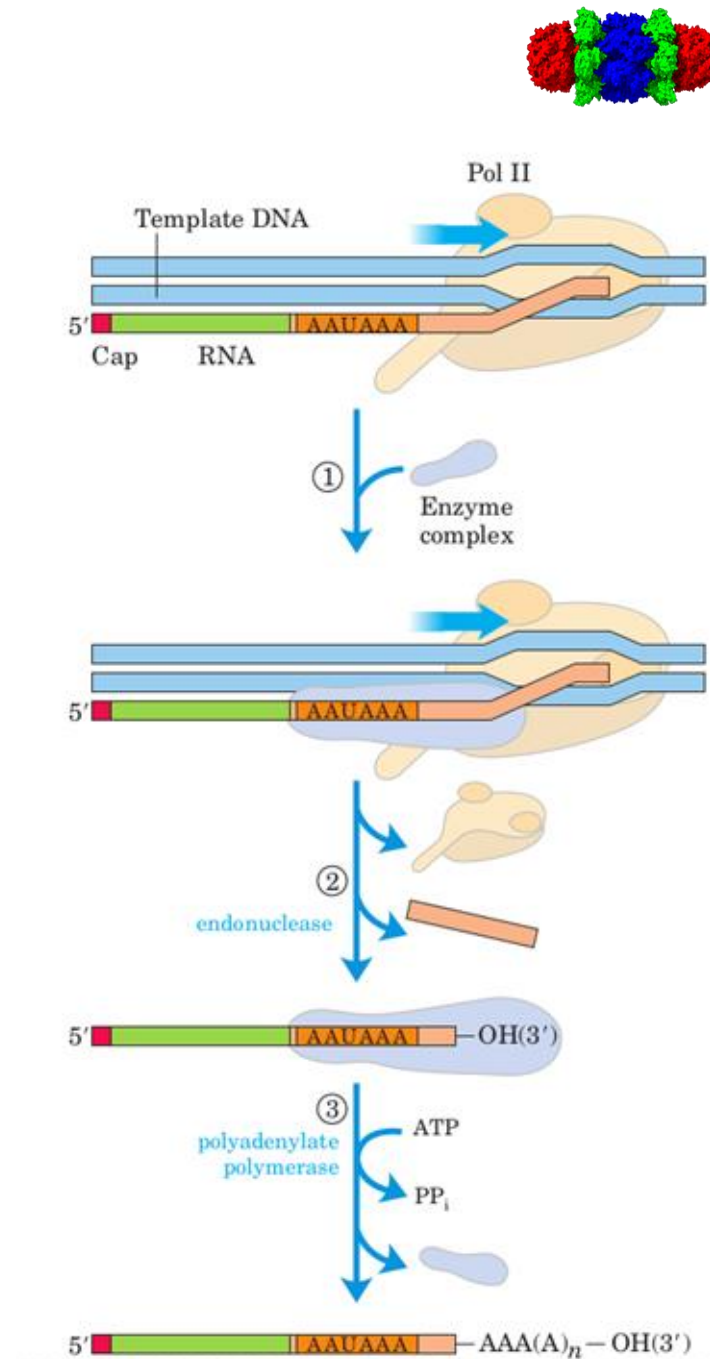
La capătul 3' majoritatea moleculelor de ARNm eucariot au o secvență de **80 – 250 resturi de A** ce alcătuiesc așa **numita coadă poli(A)**.

De această coadă se asociază proteine specifice protejează molecula de ARN împotriva degradării de către RN-aze. Coada **se atașează** în timpul transcrierii, într-un situs marcat de:

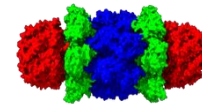
- secvența înalt conservată **5'AAUAAA3'** amplasată 10-30 nucleotide în amonte de situsul de atașare;
- **o zonă bogată în G și U** apăsată 20-40 de nucleotide în aval de situsul de atașare

Procesul atașării cozii poli(A) presupune parcurgerea mai multor etape:

- **transcrierea moleculei de ARNm** depășește locul de atașare și se sintetizează astfel ARN în exces;
- o **endonuclează** se atașează de ARN polimeraza II și secționează **excesul de nucleotide**;
- se generează astfel un **OH 3'** liber la care sunt atașate A de către o **poliadenilat-polimerază**.



Splicing-ul intronilor și exonilor în cazul ARNm;



La **bacterii**, genele sunt **continuii**, în sensul că o porțiune de ADN este colineară cu catena polipeptidică (proteina) pe care o codifică.

La **eucariote** însă, genele contin **porțiuni ce se regasesc în catena polipeptidică** (sunt copiate în ARNm și traduse, se numesc **exoni**) și **zone care nu se re-găsesc în catena polipeptidică finală** (sunt copiate în ARNm dar nu sunt traduse în aminoacizi, **introni**).

Exoni codifică în general **30-60 de aminoacizi** și au deci dimensiuni între **100-200** nucleotide (rar peste 1000 de nucleotide).

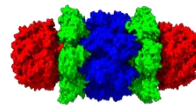
Intronii au între **50 și 20 000** nucleotide.

ARN-ul mesager primar la eucariote, dar și la câteva eubacterii și arheobacterii, este așadar un **mozaic de exoni ce alternează cu introni**, aceștia din urmă fiind majoritari. Înainte de a fi tradus în proteine, intronii sunt eliminați prin procesul de **splicing ARNm**.

Funcție de mecanismul molecular al procesului de splicing, au fost descriși 4 clase de introni:

1. **grupa I** – intronii se elimină **autocatalitic**, prin reacții de trans-esterificare în care este implicată o **guanozină**;
2. **grupa II** - intronii se elimină **autocatalitic**, prin reacții de trans-esterificare în care este implicat un rest de **A din structura intronului**;
3. **introni spliceosomalii** – introni ce sunt eliminați prin acțiune catalitică a unui ansamblu molecular complex numit **spliceosom**;
4. **introni ARNt** – intronii sunt eliminați prin acțiunea catalitică a unor endonuclease specifice.

Procesarea intronilor spliceosomali

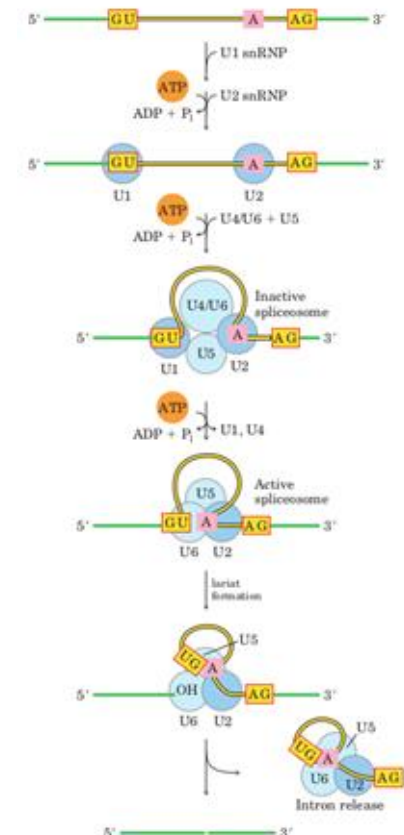
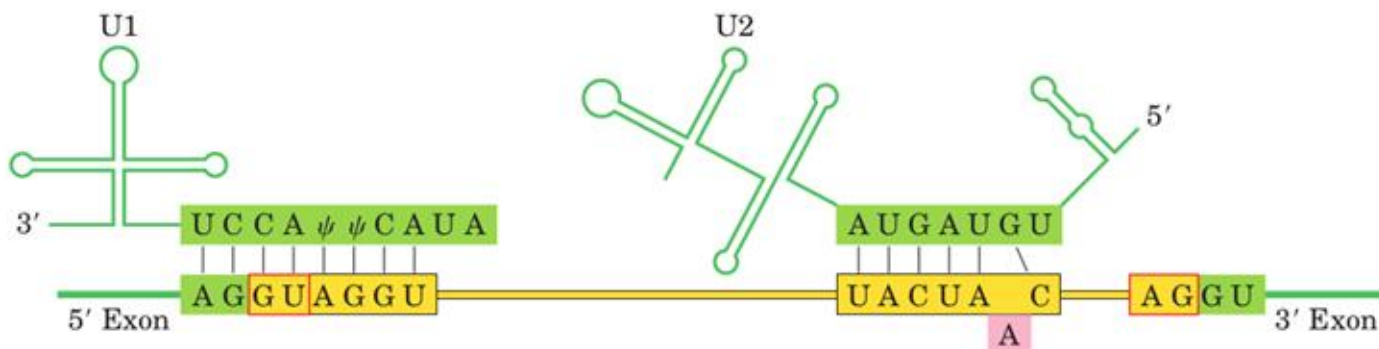


În cazul majorității intronilor, procesul de splicing nu este auto-catalitic. Acești introni nu sunt denumiți cu un număr de grupă și includ intronii din genele nucleare.

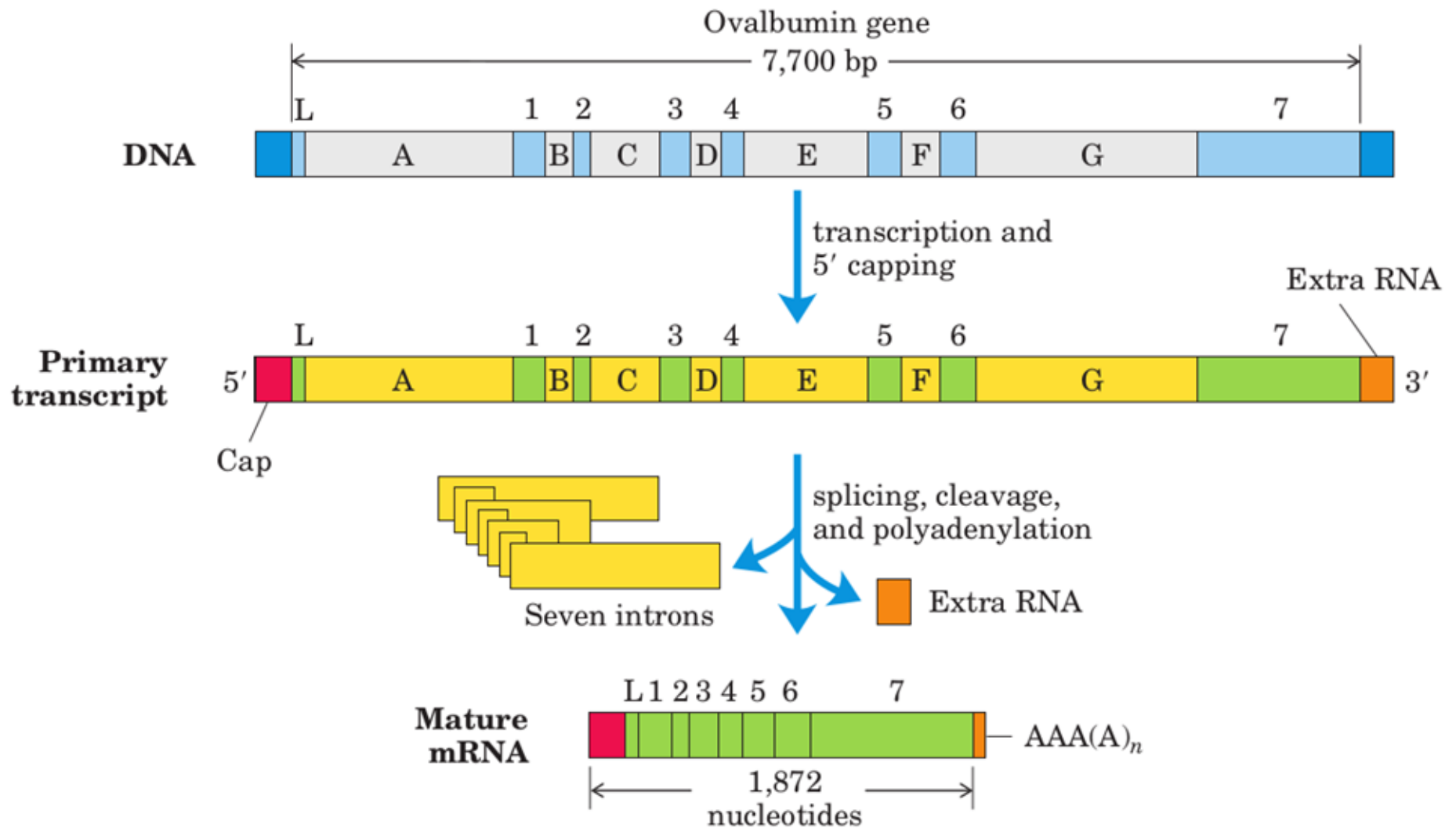
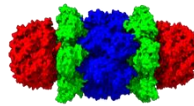
Mecanismul de splicing presupune formarea unui **intermediar circular similar cu un lasso** și este catalizată de un complex nucleoproteic de dimensiuni mari numit **spliceosom** ce este alcătuit din:

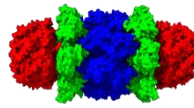
- nucleoproteine numite **small nuclear ribonucleoproteins** – **snRNPs**
- cinci tipuri de ARN nuclear de 100-200 nucleotide numite **small nuclear RNAs (snRNAs)** și notate U1, U2, U4, U5, U6. Fiecare snRNP conține câte un tip de snRNA.

Intronii spliceosomali au în general secvențele dinucleotidice GU și AG la capătul 5' și respectiv 3' ce marchează situsul de clivare. snRNA U1 conține o secvență complementară cu cea din 5' a intronilor și se leagă de aceasta, ceea ce permite apoi legare U2, U4, U5 și U6 și formarea spliceosomului propriu-zis. Procesul de asamblare a complexului molecular necesită energie, dar clivarea intronului și ligarea exonilor nu.



Imagine generală asupra procesării moleculei de ARNm



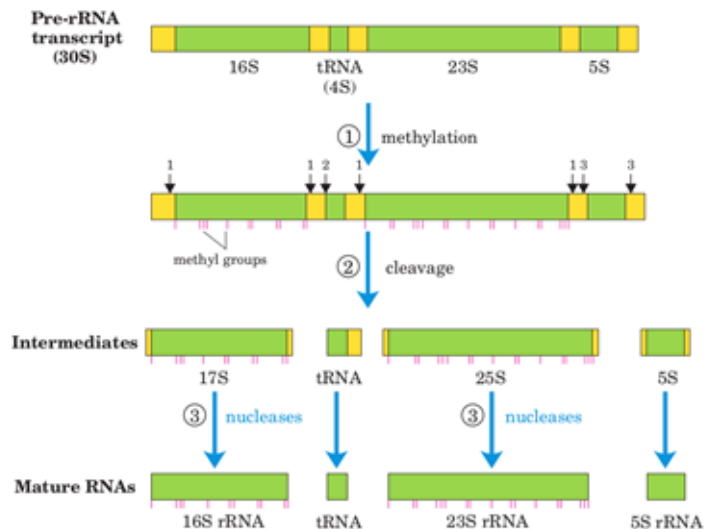


4. Procesarea ARNr și ARNt

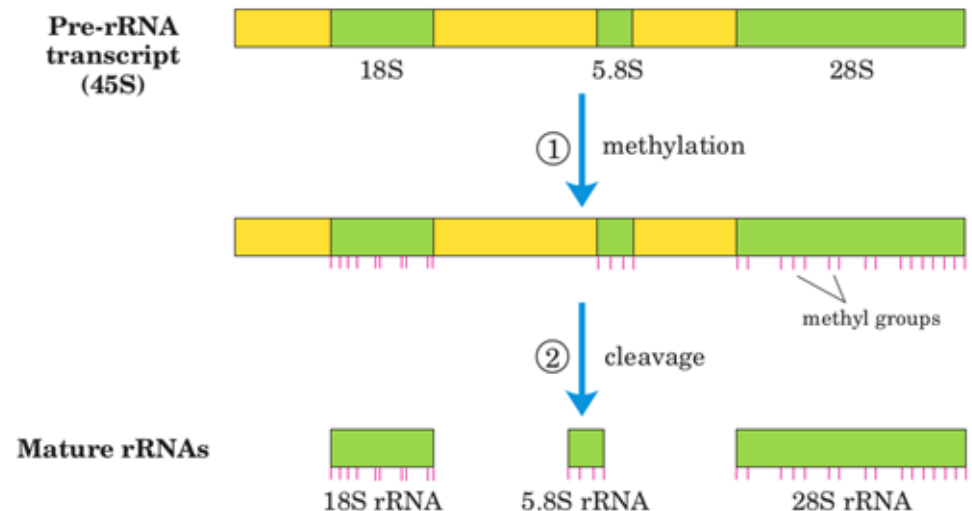
Atât la PK cât și la EK, **ARNr** este produs sub forma unei molecule unice de **pre-ARN ribozomal** sintetizate de polimeraza Pol I, moleculă de dimensiuni mari și care conține toate tipurile de ARNr.

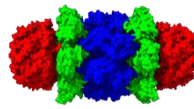
Astfel, la bacterii pre-ARNr are 6500 de nucleotide și 30S, conținând ARN-ul 16S, 23S și 5S. La eucariote, preARNr are 45S și conține ARNr specific, adică 18S, 28S și 5.8S. După sinteză, preARNr este maturat prin metilări specifice și clivări similare procesului de splicing. Clivările sunt realizate de RN-aze specifice precum RN-aza P, RN-aza III sau RN-aza E, iar excesul de nucleotide este înlăturat de nucleaze.

Procesarea pre-ARNr la bacterii



Procesarea pre-ARNr la eucariote





4. Procesarea ARNr și ARNt

ARNt este și el sintetizat sub forma unui precursor de dimensiuni mult mai mari decât produsul final.

Maturarea ARNt presupune:

- **clivarea enzimatică** dacă ARNt primar conține mai multe tipururi de ARNt;
- eliminarea excesului de nucleotide din capătul 5 prin acțiunea **RN-azei P**;
- eliminarea excesului de nucleotide din capătul 3 prin acțiunea **RN-azei D**;
- **atașarea la capătul 3 al trinucleotidei CCA** de care se va atașa aminoacidul specific ARNt. Atașarea este realizată de o RNAt-nucleotidil-transferază ce nu are nevoie de ADN pt a sintetiza secvența de 3 nucleotide ARN;
- **metilarea, deaminarea sau reducerea specifică a unor baze azotate.**

