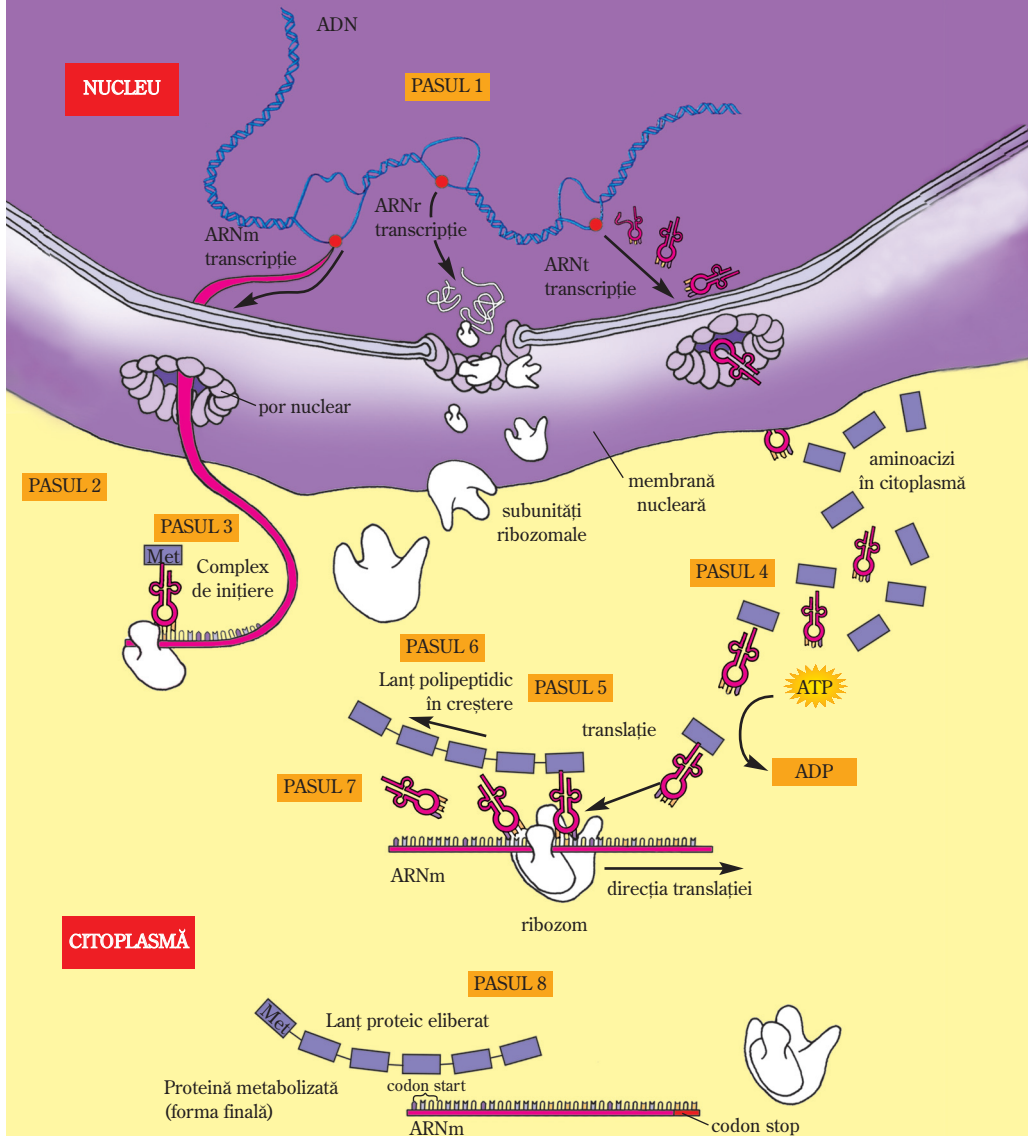
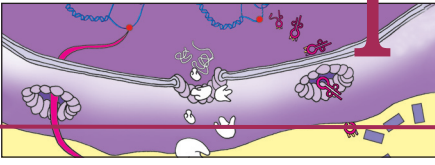


# I. GENETICĂ MOLECULARĂ





# Genetică moleculară

## Scurt istoric

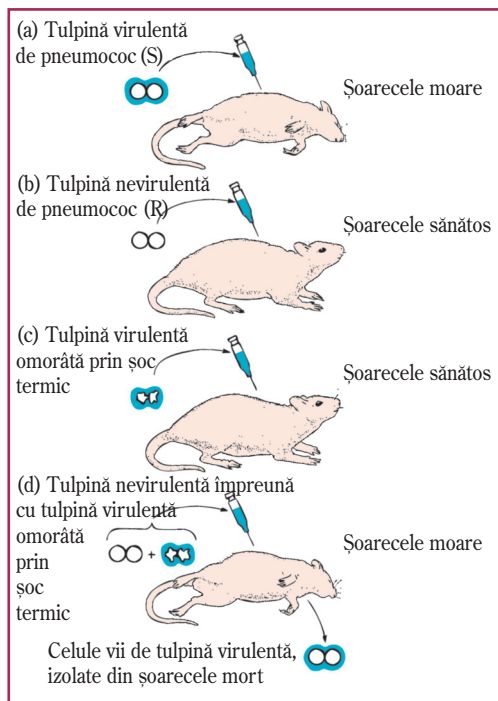
**Genetica moleculară** este o ramură a geneticii care studiază natura chimică a genei și modul în care funcția genelor afectează caracterele organismelor vii, chimia acizilor nucleici și a altor molecule care participă la replicare, funcție, mutație și repararea moleculei de ADN (Hartl & Jones).

Se consideră că începutul geneticii moleculare datează imediat după descoperirea *Legilor eredității* de către Mendel (1865). În anul 1869, Friedrich Miescher a izolat din nucleii lapșilor de somon și din alte celule, o substanță pe care a denumit-o *nucleină*. Ulterior, R. Altman a constatat caracterul acid al acestei substanțe, denumind-o *acid nucleic* (1889). În anul 1884, O. Hertwig a avut intuiția să afirme că „*nucleina este substanța responsabilă nu numai pentru fertilizare, ci, de asemenea, pentru transmiterea caracteristicilor ereditare...*”. Cercetări ulterioare au stabilit compoziția chimică a acizilor nucleici, fiind evidențiată existența a două tipuri de acizi nucleici, dependent de pentoză pe care o conțin: **acizii ribonucleici (ARN)**, cu riboză, și **acizii dezoxiribonucleici (ADN)**, cu dezoxiriboză. A fost păstrat termenul generic de **acizi nucleici**, deși s-a stabilit că acizii dezoxiribonucleici se află localizați cu preponderență în nucleu, iar acizii ribonucleici în citoplasmă.

Astfel, încă din ultima parte a secolului al XIX-lea erau cunoscute două elemente ale

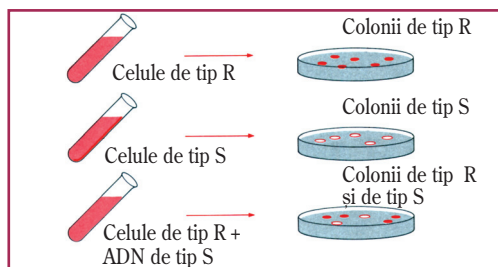
eredității (legile mendeliene ale eredității și acizii nucleici), însă rolul acizilor nucleici în ereditate a fost demonstrat abia la mijlocul secolului al XX-lea, când au început efectiv cercetările de genetică moleculară.

Rolul ADN în ereditate a fost stabilit de către O.T. Avery și colaboratorii (1944), care au reluat un experiment efectuat de E. Griffith (1928) la *Streptococcus pneumoniae*. Griffith a experimentat cu două tulpini de pneumococi: tulpina tip **S** virulentă, care prezintă capsulă și formează colonii netede (sușa **S<sub>m</sub>**) și tulpina **R**, avirulentă, care nu prezintă capsula și formează colonii rugoase (sușa **R<sub>n</sub>**). Prin mutație, tulpina **S<sub>m</sub>** poate pierde capsula și se transformă în tulpină acapsulată de tip **R<sub>n</sub>** avirulentă. Experimentele au fost efectuate la șoareci, la care s-au injectat intraperitoneal pneumococi vii sau omorâți prin șoc termic, singuri sau în amestec din ambele tulpini. S-a constatat că șoarecii au murit în urma injecției cu pneumococi virulenți vii, de tipul **S<sub>m</sub>** (situație normală), însă și în cazul injectării unui amestec constituit din pneumococi tip **R<sub>n</sub>** vii și **S<sub>m</sub>** omorâți prin șoc termic. Griffith nu a putut explica fenomenul de **transformare genetică** descoperit în acest experiment, respectiv transformarea pneumococilor avirulenți **R<sub>n</sub>** în pneumococi virulenți de tip **S<sub>m</sub>**, care au cauzat moartea șoarecilor, pe baza cunoștințelor din timpul său (**fig. 1**).



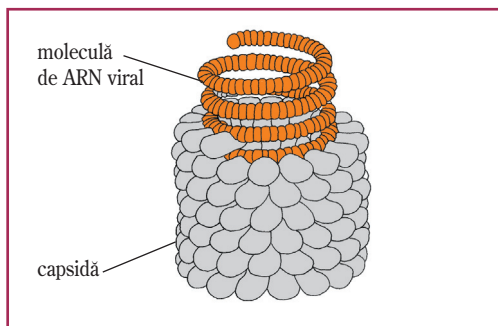
**Fig. 1.** Experiența de transformare genetică a lui Griffith și a colaboratorilor săi

O.T. Avery și colaboratorii au reluat experimentul, făcând infecții separate cu diferite componente ale bacteriei. Astfel, atunci când pe mediul de cultură al bacteriilor de tip  $R_m$  au introdus ADN extras de la bacterii de tip  $S_m$ , după 24 de ore au constatat prezența coloniilor de tip  $S_m$ . Deci, ADN bacterian posedă capacitate infecțioasă, el fiind purtătorul informației genetice (fig. 2).



**Fig. 2.** Experiența de transformare genetică a lui O.T. Avery și a colaboratorilor săi

Rolul ARN în ereditate a fost demonstrat independent de două colective (H. Fraenkel-Conrat și R. Williams în anul 1955, în S.U.A., și A. Gierer și G. Schramm în 1956, în Germania), care au efectuat experimente cu virusul mozaicului tutunului (VMT). VMT este constituit dintr-o moleculă lineară de ARN viral, protejată de o capsidă virală, de natură proteică (fig. 3). Ei au separat virusul în cele două componente și au făcut infecții separate cu acestea. S-a constatat prezența unei infecții virale numai în regiunea unde a fost injectat ARN viral, din regiunea respectivă fiind izolat virusul întreg. Deci **ARN viral poartă informația genetică** pentru sinteza întregului virus.



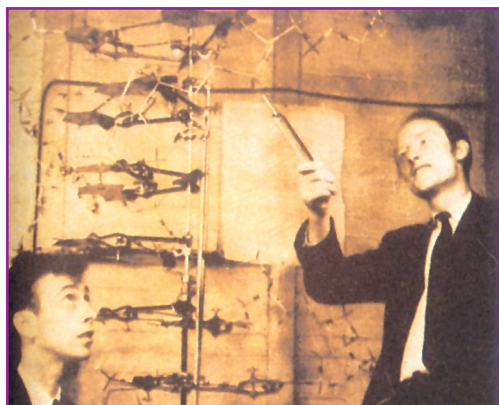
**Fig. 3.** Structura VMT

Dezvoltarea ulterioară a geneticii moleculare a fost punctată de următoarele evenimente:

1945 — Erwin Schrödinger (Premiul Nobel pentru fizică în anul 1933), a emis ipoteza conform căreia informația genetică pentru sinteza proteinelor se află localizată în acizii nucleici;

1951 — a avut loc secvențarea primei proteine;

1953 — a fost stabilită structura spațială a moleculei de ADN (J.D. Watson, F.H.C. Crick și M.H.F. Wilkins, Premiul Nobel pentru medicină și fiziologie, 1962); (fig. 4);



**Fig. 4.** J.D. Watson și F.H.C. Crick în fața modelului moleculei de ADN, propus în anul 1953

1958 — a fost stabilită replicarea semi-conservativă a ADN;

1961 — a fost demonstrat caracterul triplet al codului genetic;

1977 — s-a descoperit că la eucariote genele sunt constituite din introni și exoni;

1995 — a fost secvențat genomul bacterian;

2001 — a fost secvențat genomul uman.

Cercetările din genetica moleculară au condus la clonarea primei gene și implicit la dezvoltarea unei noi ramuri a geneticii moleculare, denumită *ingineria genetică* (tehnologia ADN recombinant) din care s-a dezvoltat industria biotehnologiilor.

Dezvoltarea geneticii moleculare a fost influențată de (1) utilizarea unor instrumente și tehnici adecvate de investigație; (2) utilizarea substanțelor fluorescente și radioactive, și (3) tehnici de enzimologie în analiza acizilor nucleici. Utilizarea tehnologiilor oferite de computer pentru a procesa informația biologică disponibilă, adică secvența de nucleotide din acizii nucleici, respectiv de aminoacizi în molecula proteică a condus la noi descoperiri în genetica moleculară și biotehnologie. Astfel, recent au apărut noi domenii ale geneticii moleculare: *bioinformatica*, *genomica* și *proteomica*. Aceste domenii noi folosesc computerul și softurile pentru a stoca, procesa și analiza informația biologică, respectiv secvențele de ADN și proteine.

Instrumentele și tehnologiile care au contribuit la dezvoltarea geneticii moleculare au fost variate: *ultracentrifuga analitică*, *microscopul electronic*, *electroforeza*, *difracția cu raze X* și diferite tipuri de *cromatografie*. Principalele tehnici utilizate au constat în separarea, reunirea, sinteza sau ruperea moleculelor de acizi nucleici. Separarea moleculei de ADN s-a realizat prin procesul de *denaturare*. Tăierea moleculei de ADN în fragmente de mărime variabilă s-a realizat atât mecanic, cât și prin *utilizarea enzimelor de restricție*, care taie molecula de ADN la nivelul unor anumite locusuri specifice.

### Știați că?

**George Emil Palade** a primit în anul 1974, împreună cu **Albert Claude** și **Christian de Duve**, Premiul Nobel pentru Medicină și Fiziologie, pentru „descoperirile lor privind organizarea structurală și funcțională a celulei”.

**Victor Babeș**, în anul 1901, a fost privat de obținerea Premiului Nobel pentru Medicină și Fiziologie, deși a avut prioritate față de lucrările lui **Emil Adolf von Behring**, în cercetările efectuate în domeniul seroterapiei și aplicării ei în medicină.

**Nicolae Paulescu** a obținut primul extras de pancreas endocrin, stabilind rolul hipoglicemiant al pancreoziminei (insulina).

Premiul Nobel pentru Medicină și Fiziologie în anul 1923 a fost acordat canadienilor **F.G. Banting** și **J.J.R. MacLeod** pentru descoperirea efectuată câteva luni mai târziu.

**Gheorghe Benga** și colaboratorii (UMF-Cluj), au descoperit prima proteină canal pentru apă (**aquaporina**) în eritrocitele umane, în 1985. Totuși, Premiul Nobel pentru Chimie (2003) a fost acordat lui **Paul Agre**, care a publicat cercetările sale trei ani mai târziu (1988).