

## 4. Elemente de biologie celulară și moleculară

O caracteristică esențială a materiei vii este reprezentată de structura sa celulară, alături de încă două proprietăți fundamentale: metabolismul și reproducerea.

Deși există mari diferențe între celulele diverselor specii, sau chiar între celulele aceluiași organism, există și o serie de caracteristici comune pe care le vom trece în revistă.

Disciplina care se ocupă cu studiul celulei și a fenomenelor la nivelul celular se numește „biologie celulară”. Din biologia celulară vom extrage sintetic câteva noțiuni privind:

- structura celulei umane (membrană, citoplasmă, nucleu, organite celulare – mitocondria și ribozomii
- diviziunea celulară mitoza și meioza.

Explicarea fenomenelor biologice pe baze moleculare face obiectul unei discipline înrudite cu biologia celulară, numită „biologie moleculară”. Din această disciplină ne vom opri la două mecanisme:

- replicarea ADN
- sinteza proteinelor

### 4.1. Structura generală a unei celule umane

#### 4.1.1. Enumerarea principalelor componente ale celulei umane

- a) membrana
- b) citoplasma
- c) nucleu
- d) organite celulare

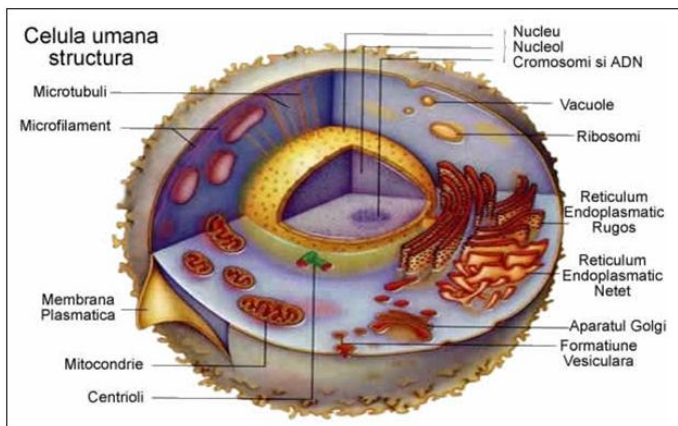


Fig. 4.1.1. Structura celulei umane

### 4.1.2. Membrana celulară

A. Membrana celulară delimitează celula la exterior, are rol de susținere și separare, fiind sediul unor procese de schimb de substanțe între celulă și mediul său extern.

B. Membrana celulară este alcătuită dintr-un strat dublu fosfolipidic, conținând în forme și proporții diferite o serie de structuri proteice (modelul „mozaic lichid” Singer-Nicholson, 1972), (figura 4.1.2.a)

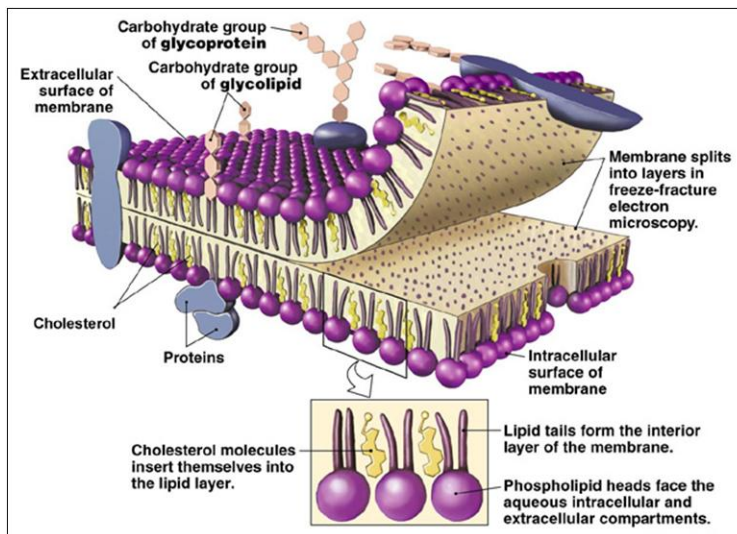


Fig. 4.1.2.a. Membrana celulară-modelul „mozaic lichid”

C. Proprietăți fizice

Membrana celulară are o grosime de 3-10 nm, cu slabă conductibilitate electrică, dar cu mare capacitate electrică, greu permeabilă pentru apă și ioni.

D. Matricea membranei celulare este alcătuită din fosfolipide ce formează un strat dublu.

Fosfolipidele au caracter amfipatic, având un capăt hidrofil și un capăt hidrofob (figura 4.1.2.b).

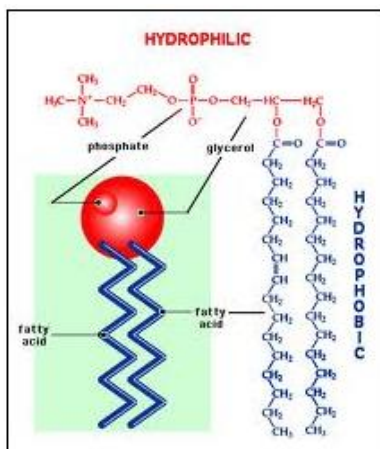


Fig. 4.1.2.b. Structura generală a unui fosfolipid

Acizii grași AG1, AG2 au 16-18 atomi de carbon în lanț și având caracter hidrofob, se orientează spre interiorul membranei, în timp ce restul fosforic, având grupări OH este hidrofил, fiind orientat spre fețele exterioare ale membranei, fie spre interiorul celulei, fie spre exterior.

E. Proteinele membranare formează „insule” în matricea fosfolipidică ele pot fi:

a) proteine intrinseci, care pot să fie la rândul lor:

- proteine ce traversează membrana (canale ionice pentru transport pasiv sau pompe ionice pentru transport activ), figura 4.1.2.c
- proteine parțial înglobate, ce formează structuri numite „receptori membranari”, cu rol foarte important în funcționarea membranei (de receptori se pot lega diferite molecule-hormoni, medicamente etc.)

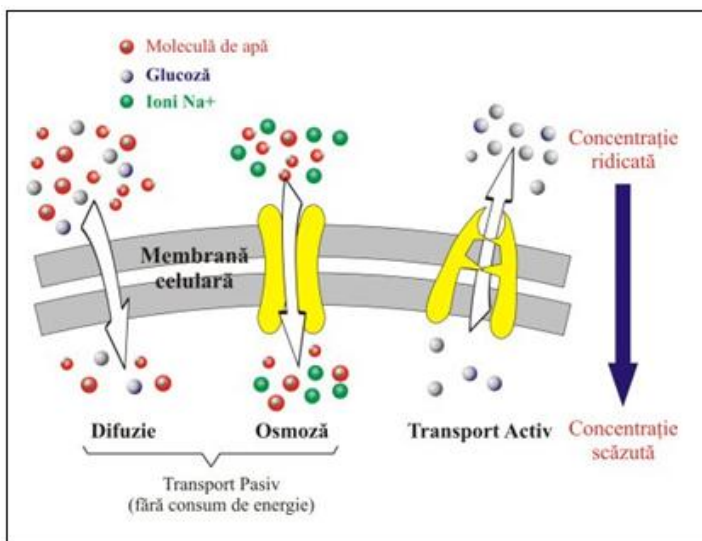


Figura 4.1.2.c. Canale și pompe ionice

b) Proteine extrinseci, legate slab la suprafața membranei

F. Membrana celulară este totodată sediul fenomenelor electrice, de producere a potențialului de membrană.

G. Membrana are un rol important în semnalizarea inter și intracelulară privind transferul de informații în aceste procese de semnalizare sunt implicați și receptorii membranari.

H. Să încheiem cu rolul membranei în apoptoză - fenomenul de moarte naturală programată.

### 4.1.3. Citoplasma

A. Citoplasma este o soluție apoasă ce reprezintă mediul de dispersie pentru substanțele dizolvate:

- ioni ( $[K^+]$  150 mM,  $[Na^+]$  10 mM,  $[Cl^-]$  100mM
- molecule mici neutre [glucoză]
- macromolecule (proteine, polizaharide etc).

B. Citoplasma este străbătută de fire ce se sprijină pe membrană, nucleu și organele celulare mari, ce formează un citoschelet:

C. Proprietățile sunt sintetizate în tabelul 4.1.3.

Tabel 4.1.3. Proprietățile fizice ale citoplasmei

Ion	Concentration in cytosol (millimolar)	Concentration in blood (millimolar)
Potassium	139	4
Sodium	12	145
Chloride	4	116
Bicarbonat	12	29
Amino acids in proteins	138	9
Magnesium	0.8	1.5
Calcium	<0.0002	1.8

#### 4.1.4. Nucleul celular

A. Nucleul celular este o formațiune sferică sau ovoidală, cu diametrul de 4-6 $\mu$  m, alcătuit în cea mai mare parte din ADN.

B. Structura nucleului figura 4.1.4.a

În interior se găsește o formațiune mai densă numită „nucleol”, iar la exterior este mărginit de o membrană nucleară, cu pori prin care pot trece molecule mici. Transportul prin membrana nucleară (pentru ARN și proteine) este asigurat de molecule numite „cargo-GTP-aze.

C. Nucleul este sediul de stocare a informației genetice și joacă un rol important în procesul de diviziune celulară și în procesul de sinteză a proteinelor.

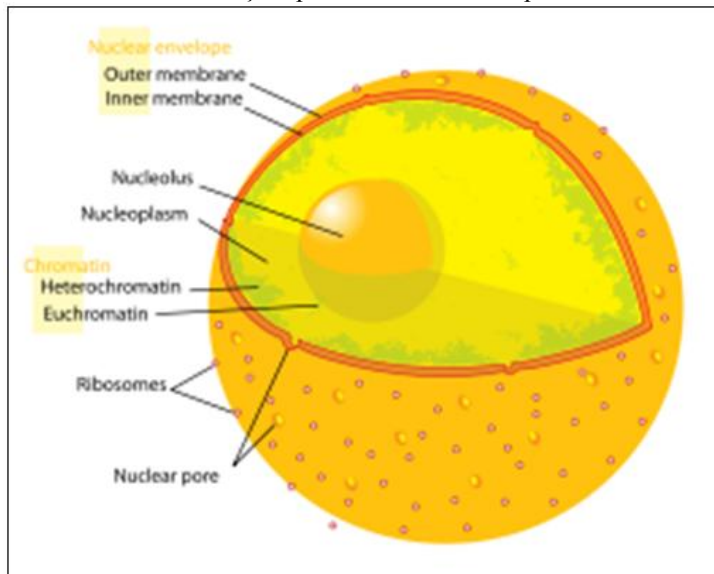


Fig. 4.1.4. Structura nucleului

#### 4.1.5. Organitele celulare

În citoplasmă se găsesc numeroase organite celulare, fiecare cu un rol bine definit în funcționarea celulei:

- reticulul endoplasmic
- ribozomi

- mitocondrii
- aparatul Golgi
- libozomi
- centrioli
- microtubuli, microfilamente
- vacuole, vezicule

Ne vom opri pe scurt doar la ribozomi și mitocondrii, având în vedere importanța lor în studiile de bioinformatică.

#### 4.1.6. Mitocondria

A. Mitocondria este un organit celular care este sediul sintezei moleculelor macroergice de ATP.

B. Are formă alungită având în interior „creste” formate prin plierea membranei interne. Membrana internă conține molecule ce asigură un transfer de electroni (NADH, FAD, ubiquinonă și citocromc), însoțit de eliminare de protoni. Procesul se numește „fosforilare oxidativă”, având ca rezultat sinteza unei molecule de ATP. Funcționarea este asigurată de o pompă de protoni descrisă sub numele de „teoria chemiosmotică” de către Mitchell, laureat al premiului Nobel în 1978.

Schematic, transferul electronilor în membrana internă a mitocondriei este prezentată în figura 4.1.6.a, iar principiul pompei de protoni este sintetizat în figura 4.1.6.b

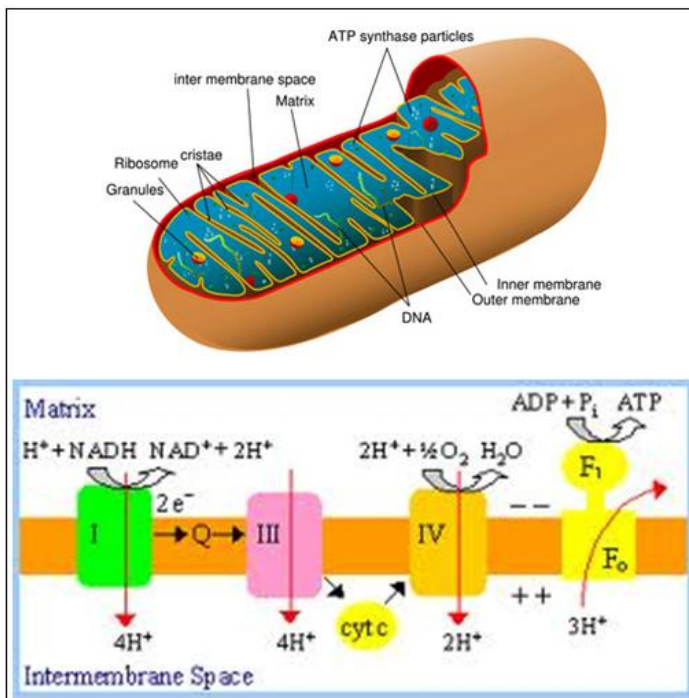


Fig. 4.1.6.a. Mecanismul fosforilării oxidative

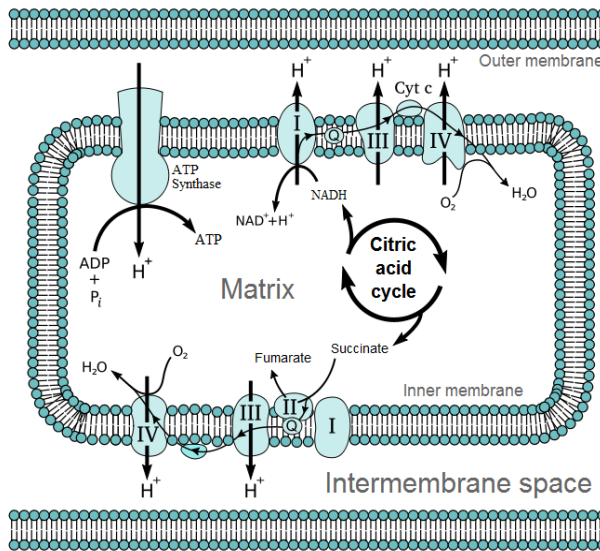


Fig. 4.1.6.b. Teorie chemiosmotică a pompei de protoni

### 4.1.7. Ribozomii

- A. Ribozomii sunt cele mai mici organite celulare, descoperite de către George Palade, de origine română, premiul Nobel în 1974.
- B. Sunt alcătuiți din ARN ribozomal și sunt sediul sintezei proteinelor.
- C. Un ribozom are trei situs-uri, notate....., în care se poate lega o moleculă de ARN(ARN “de transport” sau „de transfer” (figura 4.1.7.)

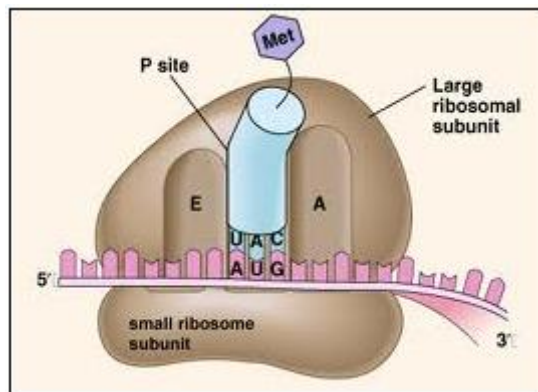


Fig. 4.1.7. Structura ribozomilor

## 4.2. Diviziunea celulară

Majoritatea celulelor umane (sunt doar unele excepții) se divid în cursul vieții lor. Procesul de diviziune se petrece diferit la celulele somatice, față de cele sexuale și vom trata separat cele două cazuri.

### 4.2.1. Mitoza

A. Mitoza este procesul de diviziune al celulelor somatice.

B. Celulele somatice sunt diploide – au fiecare cromozom în două exemplare. În cazul celulelor umane sunt 23 de perechi de cromozomi (unele detalii vor fi prezentate în cursul de genetică).

C. Ciclul de viață al unei celule somatice, adică intervalul de timp dintre două diviziuni, cuprinde mai multe faze, în care se sintetizează la început ARNm și proteine, apoi se sintetizează și ADN – practic se dublează cantitatea lui prin procesul de replicare în nucleu.

D. Diviziunea celulară ocupă cca 10% din ciclul celular și are mai multe faze:

- profaza – cromozomii devin vizibili, fiecare fiind dublat longitudinal, apar 2 centrioli ce migrează spre polii celulei, dispare membrana nucleară și se formează fusul de diviziune
- metafaza – cromozomii se aranjează în regiunea ecuatorului și se leagă de fibrele fusului în zona centromerului
- anafaza – deplasarea cromatidelor fiecărui cromozom spre polii celulei
- telofaza – formarea la fiecare pol a câte unui nucleu, cu formarea de membrană nucleară.

În final se divizează și citoplasma formându-se două celule fiice cu nuclee identice.

Fenomenele descrise mai sus sunt prezentate sintetic în figura 4.2.1

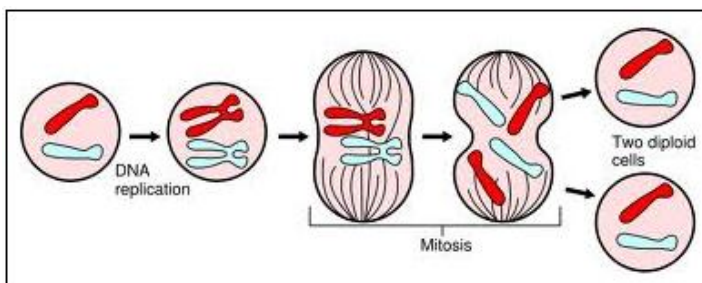


Fig. 4.2.1. Mitoza

### 4.2.2. Meioza

A. Diviziunea prin meioză este tipică pentru celulele germinale, ovocitul și spermatoцитul, în zona de maturizare ce formează celule sexuale, numite și „gameți”.

B. Meioza cuprinde două diviziuni succesive:

- a) diviziunea reduțională – când dintr-o celulă germinală diploidă se formează două celule haploide (cu fiecare cromozom într-un singur exemplar)
- b) diviziunea euațională – asemănătoare mitozei, cu deosebirea că fiecare celulă care se divide acum este o celulă haploidă.

C. În final rezultă 4 celule haploide figura 4.2.2.

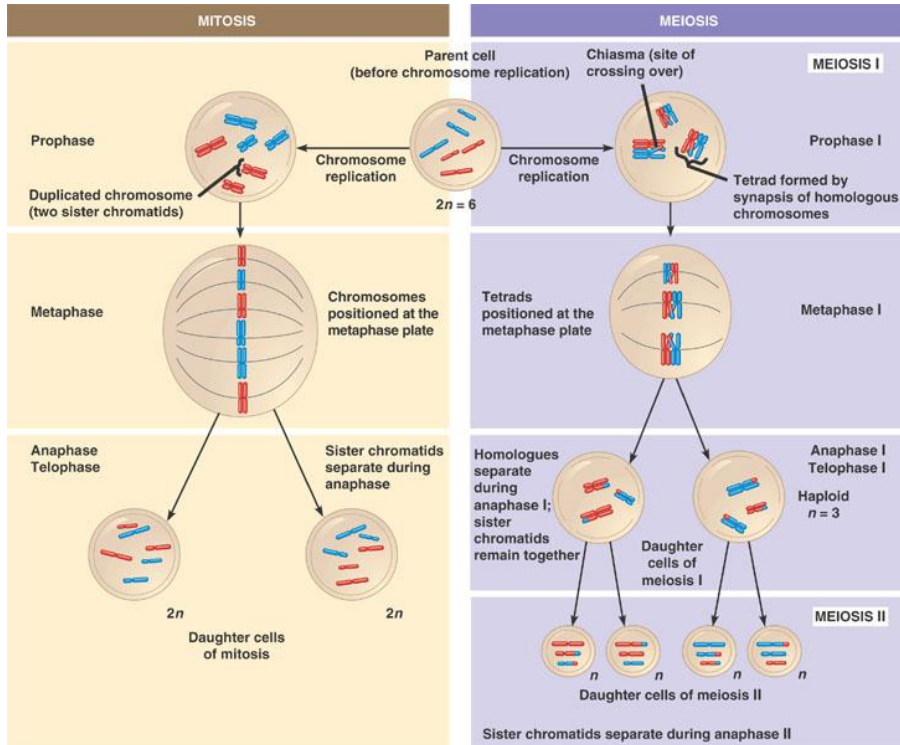


Fig. 4.2.2. Meioza

Să urmărim în continuare două procese esențiale din biologia moleculară: replicarea ADN și sinteza proteinelor.

### 4.3. Replicarea ADN

#### 4.3.1. Noțiunea de replicare

A. Descifrarea mecanismului replicării ADN a avut o importanță deosebită prin aportul său în înțelegerea mecanismelor genetice de transmitere ereditară a informației.

B. Replicarea reprezintă procesul de producere a unei „replii”, adică o copie identică cu originalul. În cazul ADN este vorba de producere a două molecule de ADN identice pornind de la una singură.

#### 4.3.2. Fazele replicării ADN

A. Replicarea este inițiată într-un punct al dublului helix, numit „origine” - o regiune cu secvență recunoscută de o proteină inițiatore a replicării aceste regiuni sunt de obicei bogate în perechi AT, mai ușor de desfăcut.

B. Pornind de la origine, dublul helix este despiralat, cu o enzimă - topoizomeraza, apoi este desfăcut asemănător cu un fermoar, fiind rupte toate punțile de hidrogen pe o anumită porțiune din helix de către o enzimă - helicaza. Sunt astfel expuse liber spre exterior bazele azotate, în succesiunea lor, ale ambelor lanțuri ale helixului. Lanțul care este desfăcut de la 3'→5' încât completarea să apară în succesiunea firească 5'→3' se numește „lanț conducător” (leading strand), iar celălalt este „lanț întârziat” („lagging strand”) (figura 4.3.2.)



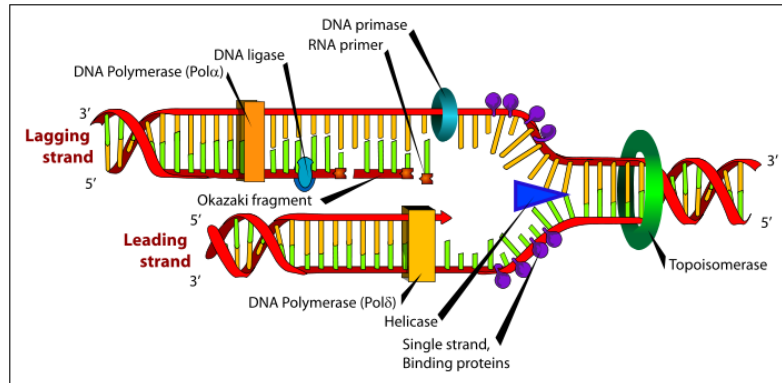


Fig. 4.3.2. Mecanismul replicării ADN

Forma de „furcă” a dublului helix desfăcut de helicază a generat și numele structurii în această fază: „furcă de replicare” („replication fork”).

C. Pe lanțul conducător pozițiile expuse sunt ocupate succesiv de către nucleotidele corespunzătoare (conform perechilor posibile A-T și G-C), proces condus de o enzimă numită ADN-polimerază. Însă sinteza pe celălalt lanț nu poate fi realizată natural, succesiunea de sinteză fiind inversă, de la 3'→5'. De aceea, informația pentru un set de baze azotate libere este întâi transpusă în ordinea posibilă 5'→3' pe niște fragmente denumite Okasaki, fragmente ce sunt apoi cuplate pe lanț cu ajutorul enzimei ADN-ligaza.

D. Fiecare din lanțurile inițiale este acum completat cu un lanț pereche, care este spiralat și devine un dublu helix identic cu originalul.

E. În eukariote procesul de replicare poate începe în mai multe poziții din dublul helixurilor de ADN.

F. Replicarea poate să fie incompletă și să nu ajungă chiar până la capătul fiecărui cromozom, numit „telomer”, rezultând o scurtare generație după generație, fenomen considerat a avea un rol în procesul de îmbătrânire, în apoptoză sau în apariția unor boli (inclusiv unele forme de cancer).

## 4.4. Sinteza proteinelor

### 4.4.1. Paradigma centrală a bioinformaticii

A. Încercările de a explica marea variabilitate biologică fenotipică în contextul unității moleculare a structurilor biologice a condus la plasarea acesteia într-o poziție cheie pentru bioinformatică. Întrebarea la care dorim să răspundem este: Cum este transmisă informația stocată în structura moleculelor de ADN din nucleolele celulelor, către celule, pentru a coordona practic toate procesele celulare, dar în special sinteza proteinelor, care sunt atât elemente structurale cât și elemente de control (enzime) a proceselor celulare. Mecanismul sintezei proteinelor este azi în bună măsură cunoscut, deși există încă elemente nu pe deplin elucidate. La descifrarea mecanismelor și-au adus contribuția cercetătorii din diverse domenii, un rol important avându-l cei din domeniul bioinformaticii.

B. Schema din figura 4.4.1.a reprezintă sintetic principalele procese ce au loc pentru sinteza proteinelor.

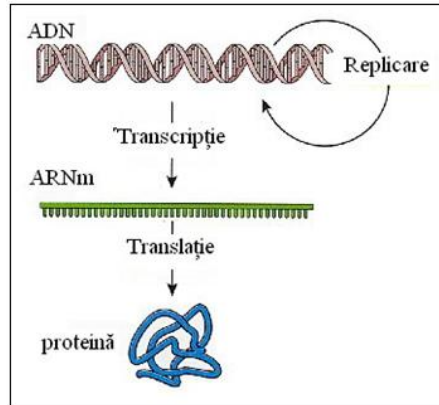


Fig. 4.4.1.a Sinteza proteinelor – dogma centrală a bioinformaticii

Vom descrie în continuare aceste procese.

#### 4.4.2. *Transcripția*

A. Regiunea din ADN care conține informația privind sinteza unei proteine se numește genă de sinteză. În amonte față de gena de sinteză se găsește o genă promotor, cu rol în declanșarea procesului de copiere a informației. Zona promotor mai este numită 5' UTR – 5' untranslated region, iar după gena de sinteză mai este o porțiune ce nu codifică secvență proteică numită 3' UTR.

##### B. Mecanismul transcripției

La activarea zonei promotor, dublul helix ADN din regiunea genei de sinteză este desfăcut în sensul  $3' \rightarrow 5'$  de către helicoză, apoi intervine ARN-polimeraza, care facilitează formarea unui lanț ARN în sensul normal  $5' \rightarrow 3'$ . Un singur lanț din cele două ale ADN este utilizat pentru citire, numit „lanț matriță” („template strand”), celălalt fiind numit lanț de codificare („coding strand”), deoarece conține secvența exact în forma în care apare în molecula de ARN sintetizată, cu singura deosebire că, în ARN, în loc de timină apare uracilul. Transcripția este prezentată schematic în figura 4.4.2.

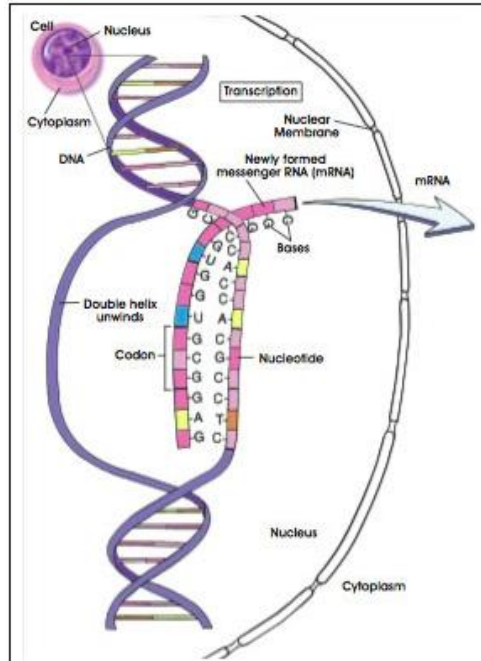


Fig. 4.4.2. Transcripția

Procesul de transcripție are trei faze: prima este inițierea, prin activarea promotorului, a doua se numește „elongare”, reprezentată prin adăugarea, nucleotid cu nucleotid, a componentelor lanțului de ARN, iar ultima fază este „terminarea”

(formarea unei bucle bogată în G-C, urmată de o succesiune de U).

Să menționăm că există și transcripție reversă, adică din ARN în ADN, întâlnită în unele cazuri patologice, cum ar fi infecția cu HIV.

#### C. Migrarea ARNm

Lanțul ARN format în nucleu se numește ARN mesager și se notează ARNm. În nucleu se mai găsesc niște organite numite „spliceosomi” care asigură un proces numit „splicing”. Prin acest proces sunt eliminate din molecula de ARNm formată, regiunile fără rol în codificarea secvenței proteice, numite „introni”, rămânând numai regiunile codificatoare, numite „exoni”. Molecula nou formată va traversa membrana nucleară și va ajunge la ribozomi, unde se va desfășura procesul de translație.

### 4.4.3. Codul genetic

A. Pentru a putea folosi informația purtată într-un alfabet cu 4 litere, cum este cazul acizilor nucleici, la codificarea a 20 aminoacizi, vom avea nevoie de o succesiune de cel puțin 3 litere, George Gamov, care asigură  $4^3 = 64$  combinații posibile (cu 2 litere am fi putut obține numai  $4^2 = 16$  combinații). Această ipoteză, că o succesiune de 3 baze azotate într-o secvență ADN codifică 1 aminoacid într-o secvență proteică a fost confirmată experimental (Nirenberg, 1961). A fost astfel introdus termenul de „codon”, definit ca un triplet de baze azotate într-un lanț de acid nucleic pentru codificarea unui aminoacid într-o secvență polipeptidică.

B. Cercetări ulterioare (Khorana, Hollez premiul Nobel 1968) au permis stabilirea codului genetic prezentat în figura 4.4.3.

		Second Letter					
		U	C	A	G		
1st letter	U	UUU   Phe UUC   UUA   Leu UUG	UCU   UCC   Ser UCA   UCG	UAU   Tyr UAC   UAA   Stop UAG   Stop	UGU   Cys UGC   UGA   Stop UGG   Trp	U C A G	
	C	CUU   CUC   Leu CUA   CUG	CCU   CCC   Pro CCA   CCG	CAU   His CAC   CAA   Gln CAG	CGU   CGC   Arg CGA   CGG	U C A G	
	A	AUU   AUC   Ile AUA   AUG   Met	ACU   ACC   Thr ACA   ACG	AAU   Asn AAC   AAA   Lys AAG	AGU   Ser AGC   AGA   Arg AGG	U C A G	
	G	GUU   GUC   Val GUA   GUG	GCU   GCC   Ala GCA   GCG	GAU   Asp GAC   GAA   Glu GAG	GGU   GGC   Gly GGA   GGG	U C A G	

Fig. 4.4.3. Codul genetic

C. Observăm că pentru majoritatea aminoacizilor există mai multe codificări posibile. De asemenea există un codon de star, precum și trei codoni de stop – cărora nu le corespunde nici un aminoacid.

#### 4.4.4. ARN de transport

A. În mecanismul sintezei proteinelor este necesară implicarea unor molecule care să asigure corespondența stabilită în codul genetic. Acestea sunt moleculele numite ARN de transport sau de transfer, notate ARNt (studiate în detaliu de Ochoa - premiul Nobel 1959).

B. Structura ARNt

Molecula de ARNt este destul de mică în comparație cu alte tipuri de ARN. Ea are 4 brațe dintre care două formează legături în timpul translației (figura 4.4.4)

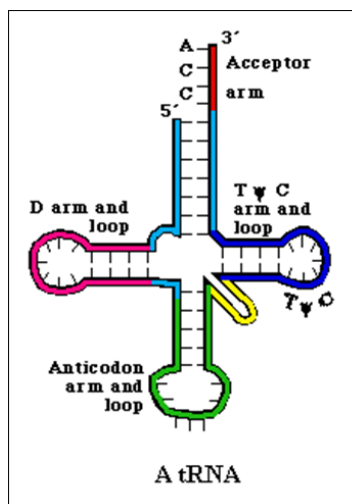


Fig. 4.4.4. Structura moleculei de ARNt

C. Observăm că brațul superior are o porțiune cu capătul 5' liber, care este de obicei fosforilat, iar la capătul 3' se poate detașa amoniacidul – atașarea este specifică.

D. Brațul opus are o buclă ce conține o secvență de trei baze azotate complementare codificării aminoacidului, secvență care se numește ” anticodon”. Această porțiune este cea cu care molecula de ARNt se leagă de secvența potrivită din matrița ARNm.

E. Celelalte două ramuri, bucelele D și T facilitează mecanismul de cuplare pe ribozom.

#### 4.4.5. Structura ribozomilor

Revenim la descrierea structurii ribozomilor, începută în 4.1.7.

Ribozomii au două regiuni, o regiune care poate cupla molecule de ARNm venită din nucleu și o regiune care conține 3 situs-uri, notate E, P și A, regiune în care se leagă ARNt.

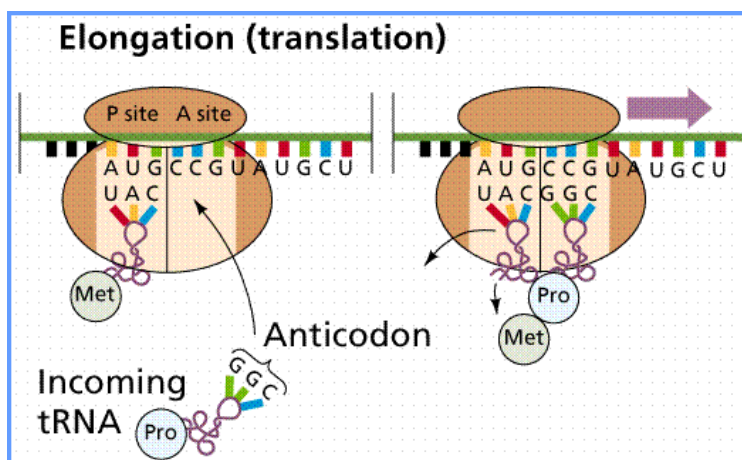


Fig. 4.4.5. ...

#### 4.4.6. Mecanismul translației

A. Când ARNm expune spre situl P porțiunea cu codonul de start (AUG), situl poate fi ocupat de un ARNt ce codifică Met (conform codului genetic).

B. În situl A, încă liber, se poate lega de un ARNt care să aibă anticodonul corespunzător următorului codon din ARNm, codon expus către situl A.

C. Aminoacidul legat de ARNt de pe situl A se cuplează printr-o legătură peptidică de aminoacidul legat de ARNt de pe situl P.

D. La formarea acestei legături peptidice, AA din P se desprinde de ARNt de care era legat și întreaga structură formată se mută cu un codon spre în față: ARNt din P trece în E, ARNt din A trece în P, cu tot cu aminoacizii legați de el și în paralel se deplasează și ARNm în unitatea inferioară. Energia necesară procesului este furnizată de o moleculă de GTP, procesul fiind susținut de o altă proteină numită factor de elongație; de fapt, această fază se și numește „elongație”.

E. Situl A devenind vacant poate fi ocupat de un alt ARNt cu anticodonul corespunzător următorului codon din matrița ARNm. Totodată ARNt de pe situl E se desprinde de lanțul ARNm. Aminoacidul legat de ARNt care a ocupat acum situl A

poate forma o legătură peptidică cu AA din poziția P, urmată de desprinderea acestuia de ARNT care l-a purtat.

Procesul se reia pas cu pas, generându-se un polipeptid, care iese din ribozom.

F. Procesul de translație se încheie când pe matricea ARNm apare un codon de stop, care nu are echivalent în ARNt, deci situl A nu se mai ocupă. În acest moment, lanțul polipeptidic format se desprinde de ribozom.

Fazele sintezei proteinelor sunt prezentate schematic în figura 4.4.6.

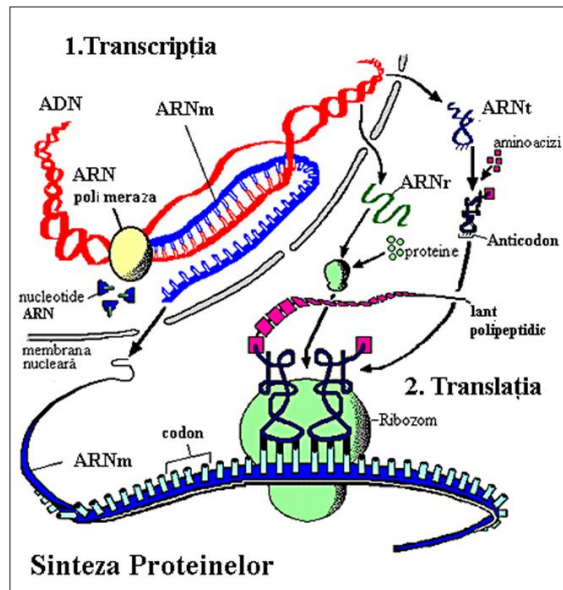


Fig. 4.4.6. mecanismul translației

#### 4.5. Controlul sintezei proteinelor

Mecanismele moleculare au un sistem de control care dirijează declanșarea, desfășurarea respectiv terminarea tuturor proceselor.

Controlul sintezei proteinelor la procariote este un mecanism de feedback studiat de Jacob, Monod și Lwoff (premiul Nobel 1965).

În cazul eucariotelor, mecanismul este mai complicat, descris prin modele cu feedback pozitiv. Nu vom intra aici în detalii privind aceste mecanisme de reglare.