

ISTORIA MOLECULEI DE ACID DEOXIRIBONUCLEIC

Marian CĂRĂBAȘ *

Genetica este doamna științelor secolului XXI, iar genetica fără ADN nu poate să existe.

În primăvara anului 2003 s-au sărbătorit la Melbourne-Australia 50 de ani de la realizarea uneia dintre cele mai mari descoperiri ale lumii de către J.D. WATSON și F.H. CRICK – structura macromoleculii de acid deoxiribonucleic (ADN).

Cu toate că se vorbește astăzi foarte mult despre acidul deoxiribonucleic, această macromoleculă nu a fost cea care a apărut prima în cadrul acizilor nucleici. Acest lucru rezultă din noile cercetări privind apariția protobionților, care au dus la concluzia că primele gene erau alcătuite din acid ribonucleic (ARN) care astăzi reprezintă materialul genetic al unor viruși și viroizi. Prin sinteza abiotică a ARN-ului în supa organică primitivă s-au sintetizat mai multe tipuri de secvențe datorită erorilor care au loc în cursul replicației. Dintre toate acestea au supraviețuit cele mai stabile care aveau o lungime de 50-100 nucleotide, similară cu ARN-ul de transfer care se găsește la toate organismele vii actuale și care are rol în transportul aminoacizilor la ribozomi, unde se sintetizează proteinele. ARN-ul este considerată molecula primordială a vieții și nu ADN-ul, deoarece: a) riboza se realizează mult mai ușor decât deoxiriboza; b) grupările hidroxil 2' și 3' joacă un rol structural în ARN și sunt implicate în formarea structurii terțiare a ARN-ului de transport, ADN-ul neavând grupare 2' hidroxil; c) gruparea 2' hidroxil a ribozei joacă ea însăși un rol catalitic direct a intronilor din ARN mitocondrial.

Aceste lucruri demonstrează că molecula de ARN posedă cele două proprietăți obligatorii ale evoluției: de replicator a informației genetice și de catalizator enzimatic. În concluzie, se sugerează că acum 3,5-4 miliarde de ani molecula de ARN a devenit un sistem autoreplicativ cu care începe evoluția sistemelor vii pe pământ.

Primele gene de tip ARN erau mici, fiind alcătuite din maximum 100 de nucleotide și aveau o stabilitate relativă. Acest lucru însemna o blocare a procesului evolutiv, deoarece evoluția presupune o cantitate mărită de informație genetică, această criză informațională fiind depășită prin apariția capacității de translație a informației din genele de ARN în moleculele proteice, acest lucru ducând la apariția codului genetic. ARN-ul, având o moleculă monocatenară, se replica cu o fidelitate mai redusă, frecvența erorilor fiind mult mai mare decât la ADN, deoarece în cazul ARN-ului nu există nici un proces reparator, frecvența mare a erorilor se menține, ducând la o mare variabilitate genetică. În aceste condiții, deși se putea realiza sinteza unei macromolecule de ARN mai mari de 8.000 până la 10.000 de nucleotide, pe măsură ce acestea se sintetizează se produce și o depolimerizare, deoarece ARN-ul are o stabilitate redusă. Acest lucru arată că mărirea mai departe a dimensiunilor genelor, respectiv a programelor genetice pe baza ARN-ului nu s-a mai putut realiza, apărând a doua criză informațională care a fost însă depășită prin trecerea de la gene de tip ARN monocatenar, la gene de tip ADN, care au o stabilitate mult mai mare datorită structurii bicatenare a macromoleculii de ADN și a fidelității cu care se replică, deoarece prezintă un mecanism de detectare și corectare a erorilor în cursul procesului de replicație. Această trecere de la ARN la ADN s-a realizat cu ajutorul unor enzime (*revers-transcriptaze*) care transferă informația genetică de la ARN la ADN.

* Universitatea de Vest "Vasile Goldiș", Arad

Istoria cercetării acizilor nucleici a început, cu adevărat, prin secolul XIX, când un anatomist elvețian de origine germană, F. Miescher, studiind puroiul la diferite persoane, descoperă în nucleul celulelor respective o substanță pe care el a denumit-o *nucleină*.

În anul 1889, Altmann separă din nucleină acidul fosforic (numind nucleina *acidul nucleic*), precum și o componentă organică; tot în aceeași perioadă, Kossel identifică produșii de hidroliză a acidului nucleic. În anul 1897 E. Fischer sintetizează bazele azotate *purinice*, în anul 1903, bazele azotate *pirimidinice*, iar în 1908 identifică, în acizii nucleici, *pentoză* (zahărul). În anul 1909 P.A. Levene introduce termenii de *nucleosid* și *nucleotid*, stabilind structura de bază a ADN-ului, iar împreună cu Jacobs, în 1912, afirmă existența structurii catenare cu legături *pentozo-fosfat* de tip 3'→5'.

În anul 1924, R. FEULGEN și H. ROSENBECK constată localizarea ADN-ului în cromozomii nucleului interfazic, datorită faptului că au reușit să realizeze o metodă de colorare specifică ADN-ului cu *leucofixină*. În anul 1928 medicul englez Griffith descoperă fenomenul de transformare genetică la bacterii, însă nu a știut să interpreteze acest lucru. În anul 1930 Feulgen și Levene realizează *depolimerizarea enzimatică a ADN-ului*, acest lucru făcându-i să dovedească natura polimerică a ADN-ului. Levene, pe baza cercetărilor pe care le-a efectuat, emite ipoteza *tetranucleotidului*, prin care el consideră că bazele azotate se succed monoton și uniform în structura polimerică a ADN-ului (AGTCAGTCAGTC ...), acest lucru făcându-l să creadă că acidul deoxiribonucleic nu poate fi purtător a informației ereditare, considerându-se că proteinele ar fi substanța ereditară deoarece ele sunt mai diverse.

În anul 1939, ASTBURY și CASPERSSON emit o ipoteză prin care ADN-ul este considerat materialul ereditar, după anul 1944, un grup de cercetători, printre care CHARGAFF, S. COHEN și W.M. STANLEY, studiind structura ADN-ului, infirmă ipoteza lui LEVENE.

În anul 1944, O.T. AVERY, C.M. McLEOD și M. McCARTY, reluând experiențele englezului GRIFFITH din 1928, reușesc să explice fenomenul de transformare genetică la bacterii, elaborând lucrarea "Rolul transformant al ADN-ului"-1944, WATSON numind această mare descoperire "Bomba lui Avery".

În anul 1944, M. DELBRÜCK și W.T. BAILEY reușesc să demonstreze la virusurile bacteriilor fenomenul de recombinare genetică, iar J. LEDERBERG și E.L. TATUM – recombinarea genetică la bacterii; ultimii doi, împreună cu BEADLE, pentru cercetările lor, au primit premiul Nobel în anul 1958.

În anul 1948, LEROY și soții VENDRELY demonstrează că ADN-ul reprezintă materialul ereditar la organisme superioare.

În perioada 1948-1952, CHARGAFF, un român de origine evreiască din Cernăuți, care a emigrat înainte de primul război mondial în S.U.A., realizează una din cele mai importante descoperiri în structura ADN-ului, demonstrând că de la bacterii la om, raportul dintre bazele azotate purinice (*adenina-A* și *guanina-G*) și pirimidinice (*timina-T* și *citozina-C*) este foarte diferit, având specificitate de specie; proporția de *citozină* este egală cu cantitatea de *guanină* și cea de *adenină* este egală cu cantitatea de *timină*; $A=T$ și $G=C$. Regulile lui Chargaff $A/T = G/C = 1$ și $A+T/G+C \neq 1$ sunt cunoscute ca *Legile lui Chargaff*, ele stând la baza elaborării modelului de structură bicatenară a ADN-ului.

În anul 1952, un grup de cercetători de la laboratoarele din Londra a lui King Colege, condus de M. WILKINS (dar rolul principal avându-l ROSALIND FRANKLIN), a realizat cercetări referitoare la studiul spectrului de difracție în raze X a macromoleculii de ADN și a stabilit parametrii stereochemici liniari, arătând că molecula de ADN este un helix regulat care descrie un tur complet de 34 Å (Ångstrom), iar distanța dintre nucleotidele vecine este de 3,4 Å, un tur complet realizându-se după 10 nucleotide.

Tot în această perioadă, M. DELBRÜCK, laureat al premiului Nobel pentru cercetări în genetica microorganismelor, l-a desemnat pe J. WATSON, care avea 22 de ani, să meargă în Europa cu o bursă pentru a descifra structura macromoleculii de ADN. În peregrinările lui prin Europa, WATSON, într-un week-end petrecut în M-ții Alpi, o cunoaște pe sora lui Crick, de care

se îndrăgostește. Prin intermediul ei, îl cunoaște pe F. CRICK, un biochimist de 36 de ani de la Cambridge Trinity College, cu care se împrietenește și încep să lucreze împreună la descifrarea structurii macromoleculii de ADN.

Cercetările lor s-au bazat îndeosebi pe descoperirile lui LINUS PAULING (laureat a două premii Nobel, unul pentru pace și unul pentru descifrarea structurii proteinelor), în ceea ce privește structura proteinelor care prezintă un α helix, legile lui CHARGAFF, precum și ale lui M. WILKINS și ROSALIND FRANKLIN.

WATSON și CRICK au comandat modele componente ale ADN-ului pe care, la un moment dat, le-au lăsat pe masă și s-au dus să joace tenis. A doua zi, așezându-le unul lângă celălalt, au avut surpriza să realizeze una dintre cele mai mari descoperiri ale științei – structura macromoleculii de ADN.



ADN-ul este o macromoleculă alcătuită din: 1) baze azotate, care sunt purinice (adenina și guanina) și pirimidinice (citozina și timina); 2) un zahăr numit deoxiriboză, care este o pentoză; 3) un radical fosforic. Baza azotată + deoxiriboza formează o nucleosidă, iar prin adăugarea unui radical fosforic, se formează o nucleotidă, care reprezintă unitatea de bază a acizilor nucleici. Aceste nucleotide se leagă între ele cu ajutorul radicalului fosfat, între carbonul 5' al unei pentoze și carbonul 3' al pentozei următoare, formând un lanț polinucleotidic care reprezintă o catenă în care legăturile fosfodiesterice sunt la exterior, iar bazele azotate la interior. Succesiunea nucleotidelor din catenă reprezintă structura primară a ADN-ului, care prezintă două catene răsucite helicoidale, una în jurul celeilalte, și care se leagă între ele la nivelul bazelor azotate prin legături de hidrogen, care reprezintă structura secundară a ADN-ului și care sunt duble între adenină și timină și triple între guanină și citozină.

Această măreață descoperire a fost prezentată în luna februarie a anului 1953 în revista *Natura* de la Londra pe o pagină și jumătate, pentru care J. WATSON, F.H. CRICK și M. WILKINS au fost răsplătiți, în 1962, cu premiul Nobel pentru medicină.

Descifrarea structurii ADN-ului a avut, are și va avea o importanță deosebită în cercetarea biologică, precum și în cercetarea altor domenii de activitate cu implicare genetică: medicină, zootehnie, agronomie, criminalistică etc., deoarece informația genetică a viețuitoarelor care reprezintă esența vieții este înmagazinată în această magnifică moleculă, numită ADN.

Istoria, evoluția și cercetarea macromoleculii de ADN este un roman captivant, cu întâmplări extraordinare, uneori hazlii și cu foarte mult mister, care a început acum 3,5-4 miliarde de ani și a continuat cu primele descoperiri, încă din anul 1869, culminând cu descifrarea ei în anul 1953 de către WATSON și CRICK, care s-au bazat pe cercetări anterioare realizate de PULING, CHARGAFF, WILKINS și ROSALIND FRANKLIN, pentru care au luat premiul Nobel în 1962.