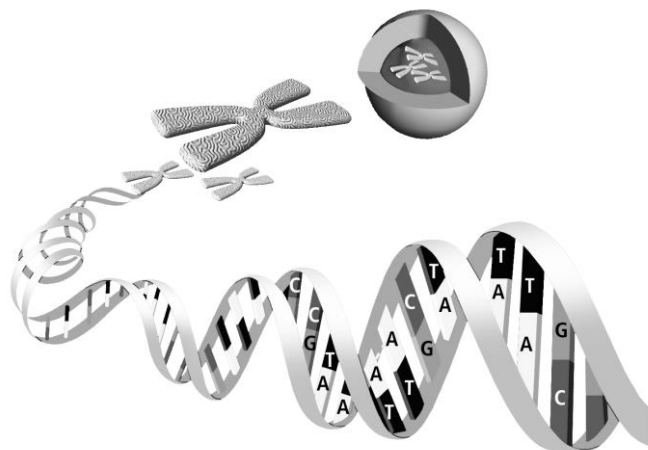


Ministerul Sănătății din Republica Moldova

Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie
„Nicolae Testemițanu”



Biologie moleculară

GHID pentru studenții de la facultatea STOMATOLOGIE
(cu elemente de profilizare)



Chișinău, 2021

Aprobat de Consiliul Metodic Central al USMF „Nicolae Testemițanu”

Autori:

Svetlana Capcelea

Ludmila Perciuleac

Ludmila Rotaru

Igor Cemortan

Cuprins

CUM SĂ LUCRAȚI CU CAIETUL	4
LUCRAREA PRACTICĂ NR. 1.....	6
LUCRAREA PRACTICĂ NR. 2.....	12
LUCRAREA PRACTICĂ NR. 3.....	24
LUCRAREA PRACTICĂ NR. 4.....	31
LUCRAREA PRACTICĂ NR. 5.....	42
LUCRAREA PRACTICĂ NR. 6.....	51
LUCRAREA PRACTICĂ NR. 7.....	60
LUCRAREA PRACTICĂ NR. 8.....	70
LUCRAREA PRACTICĂ NR. 9.....	77
LUCRAREA PRACTICĂ NR. 10.....	83
LUCRAREA PRACTICĂ NR. 11.....	93
LUCRAREA PRACTICĂ NR. 12.....	102
LUCRAREA PRACTICĂ NR. 13.....	112
LUCRAREA PRACTICĂ NR. 14.....	120
RECAPITULARE	128
CURSUL DE BIOLOGIE MOLECULARĂ.....	139
ATESTAREA STUDENȚILOR.....	141
LISTA COMPETENȚELOR PRACTICE	141
TOTALIZĂRI LA BIOLOGIA MOLECULARĂ	142
LISTA SUBIECTELOR PENTRU EXAMENUL LA BIOLOGIA MOLECULARĂ.....	143
ANEXE	144

CUM SĂ LUCRAȚI CU CAIETUL

1. Până să treceți la rezolvarea sarcinilor din caiet citiți (luați cunoștință) informația și imaginile de la tema respectivă din prelegere și manual.
2. Rezolvați sarcinile consecutiv.
3. Formulați concluzii la finele fiecărei lecții.
4. Luați cunoștință cu finalitățile lecției respective și apreciați realizarea lor.
5. Nu Vă limitați numai la informația din prelegere și manual. Selectați informații suplimentare, folosind adrese electronice și bibliografia suplimentară.

Faceți cunoștință cu principalele tehnici de învățare și ce trebuie să faceți pentru a rezolva sarcinile propuse:

➤ **Observație**

1. Identificați elementele caracteristice unor celule/țesuturi/organisme sau fenomenelor biologice.
2. Descrieți aceste elemente sau fenomene.

➤ **Analiza**

1. Descompuneți imaginar întregul în părți componente.
2. Evidențiați elementele esențiale.
3. Studiați fiecare element ca parte componentă a întregului.

Analiza schemei/figurii

1. Selectați informația necesară.
2. Recunoașteți în baza cunoștințelor și informației selectate structurile indicate în schemă, desen.
3. Analizați funcțiile/rolul structurilor recunoscute.

➤ **Comparație**

1. Analizați primul obiect/proces dintr-o grupă și determinați trăsăturile lui esențiale.
2. Analizați cel de-al doilea obiect/proces și stabiliți particularitățile lui esențiale.
3. Comparați obiectele/procesele și evidențiați trăsăturile lor comune.
4. Comparați obiectele/procesele și determinați deosebiri.
5. Stabiliți criteriile de deosebire.
6. Formulați concluziile.

➤ **Clasificare**

1. Identificați structurile/procesele pe care trebuie să le clasificați.
2. Determinați criteriile în baza cărora trebuie să faceți clasificarea.
3. Repartizați structurile/procesele pe grupe după criteriile stabilite.

➤ **Elaborarea schemei**

1. Selectați elementele, care trebuie să figureze în schemă.
2. Redați elementele alese prin diferite simboluri/culori și indicați relațiile între ele.
3. Formulați un titlu adecvat și legenda simbolurilor folosite.

➤ **Modelare**

1. Identificați și selectați elementele necesare pentru modelarea fenomenului.
2. Imaginați-vă (grafic, schematic) fenomenul studiat.
3. Realizați fenomenul respectiv folosind modelul elaborat.
4. Formulați concluzii, deduse din argumente sau constatări.

➤ **Experiment**

1. Formulați o ipoteză, pornind de la fapte cunoscute, cu privire la procesul/fenomenul studiat.
2. Verificați ipoteza prin realizarea proceselor/fenomenelor studiate în condiții de laborator.
3. Formulați concluzii, deduse din argumente sau constatări.

Lucrul cu sursele informaționale

1. Citiți prelegerea sau materialul din manual la tema respectivă, cu atenție.
2. Citiți întrebările din temă, care necesită o reflecție asupra subiectului.
3. Faceți cunoștință cu lista surselor informaționale suplimentare (manuale, monografii, articole științifice, adrese electronice) la tema respectivă.
4. Selectați sursa de informație suplimentară la tema respectivă.
5. Parcurgeți textul selectiv, desprinzând ideile principale (subiectul).
6. Citiți textul în întregime, cu atenție.
7. Scrieți conținutul esențial.
8. Formulați generalizări și concluzii referitoare la importanța temei/subiectului.

LUCRAREA PRACTICĂ Nr. 1

SISTEME BIOLOGICE

Organismele vii, indiferent de complexitate, inclusiv și organismul uman, au un principiu comun de organizare, ce le determină să fie sisteme ce se autoreproduc, se autoreînnoiesc și au capacitate de autoreglare. Particularitățile de structură și funcție a unui organism viu, de regulă, sunt codificate în macromoleculele de ADN și realizate prin sinteza moleculelor de ARN și proteine. Proteinele reprezintă substratul molecular al tuturor structurilor, proprietăților și funcțiilor organismului viu. Astfel, organismul viu reprezintă un complex de biopolimeri (acizi nucleici, proteine, hidrați de carbon și lipide) ce interacționează specific, asigurând formarea și funcționarea unor sisteme deschise, capabile să perpetueze prin succesiunea generațiilor. Unitatea structural-funcțională a materiei vii este celula, iar calitatea vieții, în primul rând, depinde de calitatea genomului și proteinomului celular. Important de accentuat, că orice proces patologic poate avea la bază modificări celulare:

- defecte metabolice;
- defecte structurale;
- defecte de semnalizare;
- defecte în contactele celulare; etc.

Încercând să cunoști mai bine organizarea și funcționarea celulei / celulelor, ai șanse să înțelegi mecanismele de producere a bolilor umane și căile de rezolvare a proceselor patologice. Medicina secolului XXI este o MEDICINĂ MOLECULARĂ.

Multe dintre aspectele organizării și funcționării sistemelor vii au fost studiate la gimnaziu și liceu. Reamintindu-vă cele învățate, ascultând atent prelegerea cu tema dată și citind capitolul 1 din „Curs de Biologie moleculară” încercați să puneți în discuție următoarele subiecte:

1. Proprietățile fundamentale și formele de organizare ale materiei vii;
2. Nivelurile de organizare ale materiei vii;
3. Componentele necesare pentru autoreproducerea, autoreglarea și autoreînnoirea organismelor vii;
4. Caracteristica comparativă a formelor celulare și acelulare de viață;
5. Importanța teoretică și practică a cunoașterii particularităților de organizare și funcționare a celulei eucariote;
6. Substratul molecular al organismului viu.

1. Definiți noțiunile:

✓ Sistem biologic:

✓ Celulă eucariotă:

✓ Celulă procariotă:

✓ Virus:

✓ Autoreproducere:

✓ Autoreglare:

✓ Autoreînnoire:

✓ Genom:

✓ Proteinom:

✓ Țesut:

✓ Organ:

2. Completați tabelul: „Discreția și integritatea organismului uman”

Nivele de organizare	Particularități de organizare	Mecanisme de formare	Rol biologic	Exemple, tipuri
Celulă				
Țesuturi				
Organe				
Sisteme de organe				
Organismul uman				

3. Completați tabelul: „Caracteristica comparativă a diferitor celule umane”. Încercați să găsiți principalele asemănări și deosebiri între diferite celule ale unui organism

	Celulă epitelială	Celulă nervoasă	Ameloblast	Limfocit
Structura				
Forma				
Funcția				
Originea				
Particularități importante				

* NB: În organismul uman se disting în jur de 200 tipuri de celule, toate provin din celula zigot, conțin material genetic identic, structură asemănătoare și funcție diferită.

4. Completați tabelul: „Componente celulare generale” și faceți o caracteristică comparativă a celulei eucariote, celulei procariote și virușilor

Compartimentele celulare	Funcții majore	Celula eucariotă	Celula procariotă	Virusul
Plasmalema				
Citosolul				
Nucleul				
Mitocondriile				
Reticul endoplasmatic				
Ribosomii				
Aparatul Golgi				
Lizosomii				
Peroxisomii				
Centrozomul				

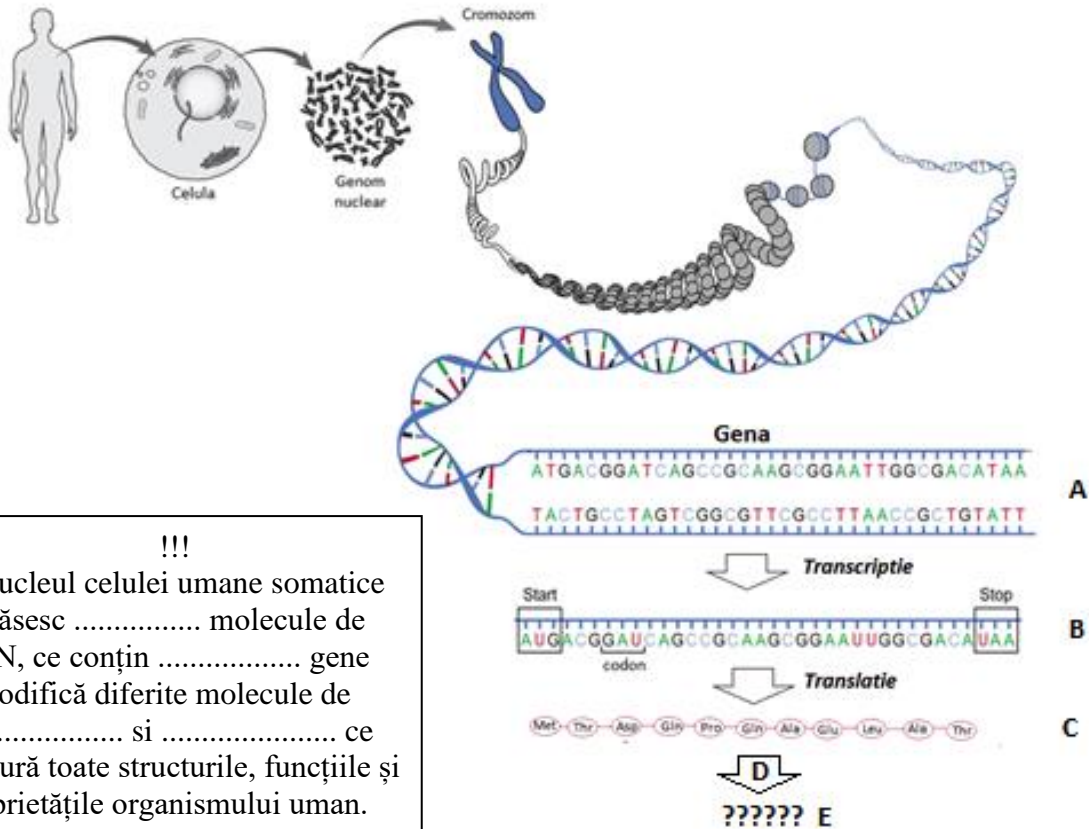
Analizând tabelul de mai sus completat evidențiați:

a) principalele asemănări între celula eucariotă și procariotă:

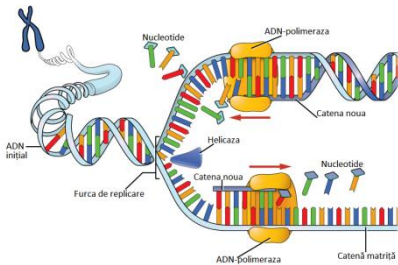
b) principalele deosebiri între celula eucariotă și procariotă:

c) principalele deosebiri între celulă și virus:

5. Analizați figura și completați legenda. Găsiți relația dintre principalii biopolimeri.



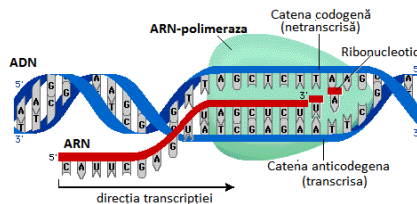
6. Analizați figurile ce sugerează biogeneza biopolimerilor.



Replicarea

Rol biologic:

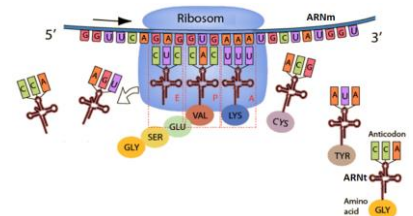
Responsabili:



Transcripția

Rol biologic:

Responsabili:



Translația

Rol biologic:

Responsabili:

Finalități:

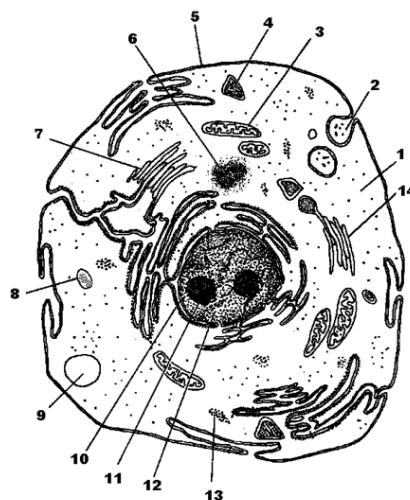
1. Să cunoașteți definiția și proprietățile de bază a sistemelor biologice.
2. Să știți substratul molecular al viului.
3. Să înțelegeți de ce celula este unitatea structural-funcțională a organismului uman și unitatea patologică în bolile umane.

Test de autoevaluare:

1. Completați spațiile din frazele de mai jos:
 - a. Proprietățile fundamentale ale organismelor vii sunt _____, _____ și _____.
 - b. Unitatea structural-fundamentală a organismului viu este _____.
 - c. Macromoleculele principale ale sistemelor biologice sunt _____, _____, _____, _____.
 - d. Programul biologic al celulei și organismului în întregime este înscris în moleculele de _____ și realizat prin sinteza moleculelor de _____ pentru formarea _____ necesare activității vitale.

2. Analizați atent imaginea și identificați componentele celulare indicând cifrele corespunzătoare:

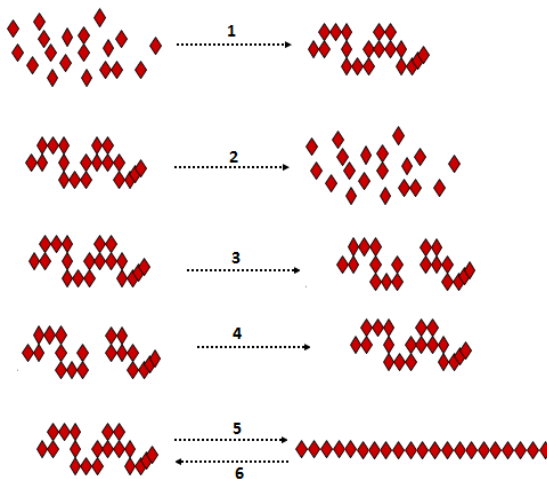
- a. Membrana plasmatică ___;
- b. Nucleul ___;
- c. Mitocondria ___;
- d. RE neted ___;
- e. RE rugos ___;
- f. Aparatul Golgi ___;
- g. Lizosom ___;
- h. Peroxizom ___;
- i. Ribozom ___;
- j. Centrozom ___;
- k. Citosol ___.



3. În spațiile de mai jos scrieți organitul celular responsabil de funcțiile corespunzătoare:
 - a. Barieră dinte mediul intra- și extracelular - _____;
 - b. Coordonează toate activitățile celulare - _____;
 - c. Biogeneza ribozomilor - _____;
 - d. Biogeneza lizosomilor - _____;
 - e. Sinteza proteinelor - _____;
 - f. Sinteza și procesarea proteinelor - _____;
 - g. Maturizarea și sortarea proteinelor - _____;
 - h. Digestia intracelulară - _____;
 - i. Sinteza lipidelor - _____;
 - j. Detoxifierea xenobioticilor - _____;
 - k. Neutralizarea metaboliților celulari - _____;
 - l. Sinteza ATP-ului celular - _____;
 - m. Scindarea ATP-ului celular - _____;
 - n. Conferă formă celulei - _____;
 - o. Biogeneza microtubulilor - _____.

4. Analizați șirul și excludeți noțiunea ce nu se potrivește lanțului logistic: sinteză, biogeneza, polimerizare, formare, scindare, asamblare. Argumentați excluderea.

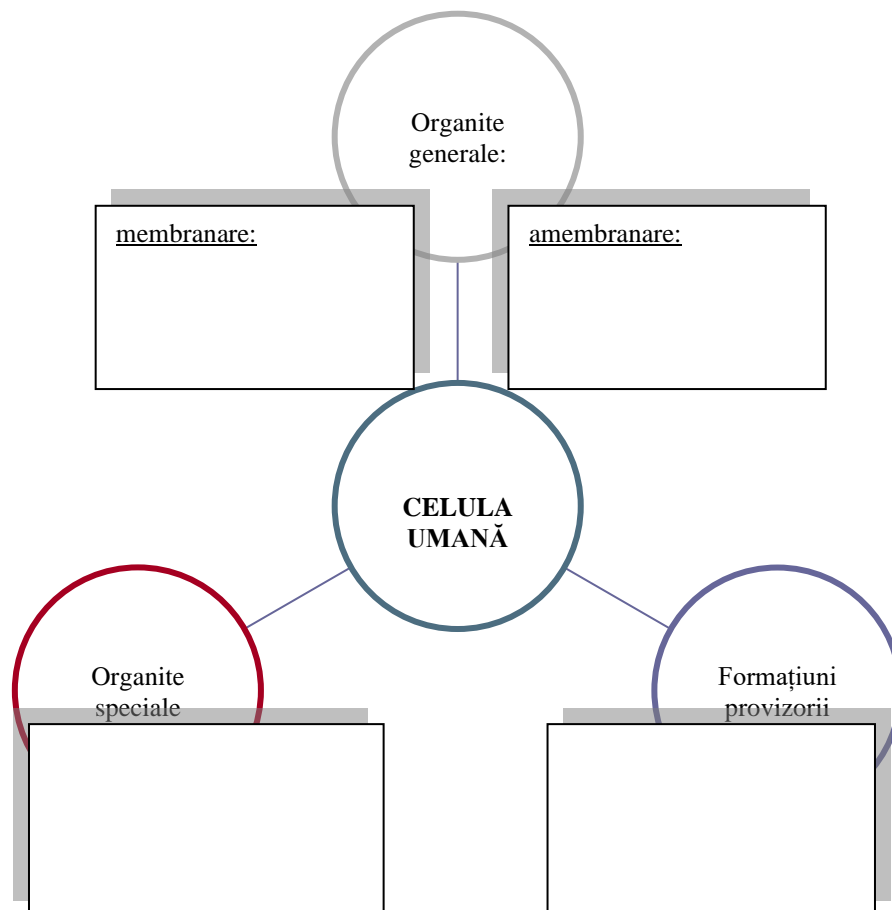
5. Analizați schema și asociați procesele din imagine cu noțiunile din coloana din dreapta:



- A. Sinteza macromoleculii;
- B. Polimerizarea micromoleculilor;
- C. Scindarea macromoleculii;
- D. Denaturarea macromoleculii;
- E. Renaturarea macromoleculii;
- F. Lizarea macromoleculii;
- G. Ligarea macromoleculii;

6. Clasificați componentele celulare completând diagrama:

Aparat Golgi; Axoni; Centrioli; Cili; Dendrite; Flageli, Incluziuni, Lizosomi; Microvilozități; Mitocondrie; Peroxisomi; Ren; RER; Ribozomi; Vacuole; Vezicule.



LUCRAREA PRACTICĂ Nr. 2

MACROMOLECULE

Acizii nucleici, proteinele, lipidele și hidrații de carbon sunt biopolimeri care au masă moleculară mare, structură, formă, proprietăți și funcții foarte variate.

ADN-ul reprezintă molecula eredității și variabilității, care specifică programul de organizare și funcționare a celulei / organismului pluricelular. Prin replicarea ADN-ului se transmit trăsăturile caracteristice celulei date / organismului dat – altor generații (celulelor, copiilor).

Moleculele de ARN sunt copii scurte de pe anumite secvențe ale ADN-ului (gene), care asigură realizarea informației codificate în secvențe specifice de aminoacizi pentru sinteza diferitor tipuri de proteine. Codul genetic este universal pentru toate organismele vii și este format din secvența celor patru tipuri de nucleotide (A, G, C, T), care combinându-se diferit determină o anumită combinație a aminoacizilor în proteină.

Proteinele sunt molecule caracteristice organismului, care prin diversitatea lor structurală și proprietățile lor variate fizico-chimice asigură toate procesele biochimice, fiziologice din celulă și organism, fiind substratul material al tuturor structurilor organismelor vii.

Lipidele, în special datorită proprietăților lor hidrofobe, reprezintă materialul principal de construcție a barierelor biologice – membranelor celulare și intracelulare.

Hidrații de carbon reprezintă substratul energetic principal în celulă. Complexul de biopolimeri al unei celule sau organism interacționează specific, formează complexe supramoleculare asigurând discreția și integritatea sistemului biologic pe care îl reprezintă. Biopolimerii, de regulă, sunt sintetizați din anumite tipuri de monomeri conform programului codificat în moleculele de ADN și mediat de proteine – enzime, proteine reglatoare, hormoni.

Genomul uman este reprezentat de 46 molecule de ADN nuclear și câteva zeci de molecule de ADN mitocondrial. Producția genelor nucleare și mitocondriale formează proteinomul celulei, care determină calitatea și longevitatea vieții celulei și organismului. Sunt cunoscute și bine definite circa 9000 de boli umane moleculare, cauza cărora sunt modificări nucleotidice la nivel de ADN, iar mecanismul patologic are la bază un defect al proteinei codificate. Sute de laboratoare de genetică pe toate continentele, au ca scop cercetarea genelor umane normale și mutante, legătura dintre mutație și patologie și încearcă să producă noi generații de medicamente pe bază de inginerie genetică.

Subiecte pentru discuție:

1. Macromoleculele principale dintr-un organism viu.
2. Legătura logică între ADN, ARN și proteine.
3. Locul proteinelor în celulă.
4. Proprietățile și funcțiile biopolimerilor.
5. Relația între structura, forma și funcția proteinelor.
6. Proprietățile acizilor nucleici.

1. Definiți noțiunile:

✓ Macromoleculă:

✓ Biopolimer:

✓ Monomer:

✓ Legătură covalentă:

- ✓ Structură primară:

- ✓ Aminoacid:

- ✓ Polipeptid:

- ✓ Nucleotid:

- ✓ Replicare:

- ✓ Heterogenitate:

- ✓ Polimorfism:

- ✓ Secvență nucleotidică:

- ✓ p.b. (p.n.)

- ✓ ARNt:

- ✓ ARNm:

- ✓ ARNr:

- ✓ 40S:

- ✓ 60S:

2. Completați tabelul: „Caracteristica generală a macromoleculor”

Macromolecula	Localizarea în celulă	Funcții
ADN		
ARN		
Proteine		
Polizaharide		
Lipide		

*** Comparați cunoștințele pe care le aveți la acest subiect cu elementele pe care le-ați aflat din cursul dat.

3. Completați tabelul: „Caracteristica comparativă a acizilor nucleici și proteinelor”.

Caracteristici	ADN	ARN	Proteine
Monomeri			
Legături covalente			
Structura primară			
Structura secundară			
Structura terțiară			
Structura cuaternară			
Modul de sinteză			
Locul sintezei			
Locul maturizării			
Localizarea în celulă			
Nr. de tipuri de molecule în celula umană			

Analizând tabelul de mai sus găsiți ce relație există între aceste molecule:

4. Completați tabelul: „Proprietățile moleculelor de ADN, ARN și proteine”

Proprietatea	ADN	ARN	Proteine
Replicarea	*	*	*
Repararea	*	*	*
Denaturarea	*	*	*
Renaturarea	*	*	*
Eterogenitatea	*	*	*
Variabilitatea	*	*	*
Recombinarea	*	*	*
Hibridarea	*	*	*
Flexibilitatea	*	*	*
Fragilitatea	*	*	*
Sarcina electrică	*	*	*

* Rol biologic

5. Completați tabelul: „Particularități de organizare a biopolimerilor ”

Complexe supramoleculare	<i>Componente moleculare</i>	Rol biologic
DNP		
RNP		
Lipoproteide		
Glicoproteide		

6. Completați tabelul: „Caracteristica moleculelor de ADN ale celulelor umane”

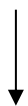
Molecule de ADN	Tipuri de secvențe	Funcții	Diversitate
ADN nuclear	Gene structurale		
	Gene ARNr		
	Gene ARNt		
	Secv.centromerice		
	Secv.telomerice		
	Secv.minisateliți		
	Secv.microsateliți		
	Transpozoni		
ADN mitocondrial	Gene structurale		
	Gene ARNr		
	Gene ARNt		

7. Completați tabelul: „Caracteristica moleculelor de ARN”

Tipurile ARN	Funcții	Numărul de variante în celulă	Locul sintezei
ARNm			
ARNr			
ARNt			
ARNsn			
ARNsc			

8. Găsiți relația:

ex.: ADN 5' ...ATGGTCCATACAGTTAGCTCGTAACTAATGCAT...3'
3' ...



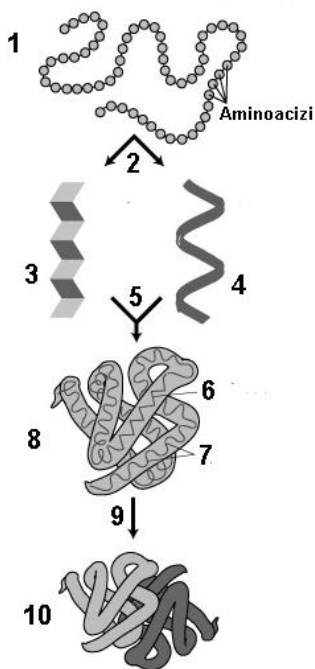
ARNm 5' ...



Proteină

- Definiți relația ADN – ARN – proteină
- Ce rol are ADN în sinteza ARN?
- Ce rol are ARNm în sinteza proteinei?
- Ce rol are ADN în sinteza proteinei?

9. Analizați figura de mai jos, descifrați legenda:



1. _____
2. _____
3. _____
4. _____
5. _____
6. _____
7. _____
8. _____
9. _____
10. _____

Cum se formează structura primară și care-i rolul ei?

Cum se formează structura secundară și care-i rolul ei?

Cum se formează structura terțiară și care-i rolul ei?

Cum se formează structura cuaternară și care-i rolul ei?

10. Completați tabelul: „Clasificarea proteinelor”

Exemple de proteine	Funcții	Localizare în celulă
Actina	Asigură formarea microfilamentelor citoscheletului	
Alcool-dehidrogenaza	Neutralizarea alcoolului	
Aquaporine	Transportul H ₂ O	
ATP-aza	Catalizează procesul de scindare a ATPului	
Ca ⁺⁺ -ATPaza	Transportul activ al ionilor de Ca	
Carioforine	Exportine și importine nucleare	
Catalaza	Scindează H ₂ O ₂	
Citocrom-oxidaze	Detoxifierea medicamentelor și a altor xenobiotici	
Cl ⁻ -ATPaza	Transportul activ al ionilor de Cl	
Clatrina	Determină formarea veziculelor de transport de la/spre plasmalemă	
Colagen	Determină structura matricei extracelulare a țesutului conjunctiv	
Cu ⁺⁺ -ATP-aza	Transportul activ al ionilor de Cu	
Factori de coagulare	Reglează formarea trombului și hemostaza	
Factori de creștere	Reglează proliferarea unui anumit tip de celule pentru creșterea organismului, reînnoirea și regenerarea țesuturilor	
Factori de transcripție	Reglează expresia genei pentru sinteza anumitei proteine celulare	
Factori de translație	Reglează decodificarea ARNm și sinteza unui polipeptid	
Hb	Transportul O ₂ și CO ₂	
Hidrolaze	Catalizează procesele de scindare a moleculelor	
Histone	Compactizează ADNul nuclear	
Ig	Recunosc specific antigeni străini	
Insulina	Reglează nivelul de glucoză plasmatică	

Ionofori	Transportul transmembranar al ionilor	
Kinezine	Transferul veziculelor de-a lungul microtubulilor	
Lamine	Determină forma nucleului Contribuie la fixarea cromatinei	
Miozina	Asigură formarea microfilamentelor intermediare ale citoscheletului miocitelor	
Na ⁺ -K ⁺ -ATP-aza	Transportul activ, antiport de ioni de Na și K	
Nucleoporine	Formează porii nucleari	
Opsine	Recunosc undele de lumină pentru percepția vizuala	
Oxidoreductaze	Catalizează reacții de oxidoreducere, prin care se transfera hidrogen sau electroni între două substraturi.	
Permeaze	Transportul transmembranar al micromoleculilor	
Receptor androgenic	Recunoaște testosteronul pentru activarea genelor masculinizante	
Receptor hormon de creștere	Recunoaște hormonul de creștere pentru stimularea proliferării celulelor	
Receptor insulenic	Recunoaște insulina pentru deschiderea canalelor de glucoza	
Receptor LDL	Recunoaște particulele lipoproteice cu densitate joasă, pentru transportul colesterolului plasmatic în hepatocite	
Riboforina	Fixează ribozomul de RER	
Sintetaze (ligaze)	Catalizează procesele de sinteză a moleculelor	
Somatotropina	Reglează proliferarea celulelor și creșterea organismului	
Spectrina	Asigură forma biconcava a eritrocitelor	
Transferaze	Catalizează procesele de transfer a anumitor grupări de atomi (-CH ₃ , -NH ₂ , PO ₃ H ₂ , etc) de la un donor la un acceptor	
Tubuline	Asigură formarea microtubulilor citoscheletului, centriolilor, fusului mitotic, cililor, flagelilor	

(Acest tabel îl puteți completa după studierea compartimentării celulei)

11. În loc de concluzii completați tabelul "Componentele moleculare ale celulelor umane":

(! Mai mult de 200 tipuri de celule diferite asigură structurile și funcțiile organismului uman)

	Celula nervoasă	Celula epitelială	Ameloblastul	Odontoblastul	Cementoblastul
ADN-nuclear					
- gene structurale					
- gene ARNr					
- gene ARNt					
ADN-mt					
- gene structurale					
- gene ARNr					
- gene ARNt					
ARNm					
ARNr					
ARNt					
Proteine					

Estimați variante specifice unei anumite tip de celule. **Tineți minte:** (!) Genomul tuturor celulelor unui organism este identic; (2) Proteinomul compartimentelor celulare și fiecărui tip de celule este specific.

12. Găsiți care din proprietățile din prima coloană caracterizează biopolimerii studiați:

Caracteristici	ADN nuclear	ADN mt	ARNm	ARNt	ARNr	ARNsn	Proteine
Structură monocatenară							
Structură bicatenară							
Formă lineară							
Formă circulară							
Conține baze purinice							
Conține baze pirimidinice							
Conține baze minore							
Conține radicali acizi, bazici, neutri							
Replicare							
Reparație							
Denaturare							
Renaturare							
Conține IG							
Transmite IG							
Realizează IG							
Se transcrie							
Se translează							
Transportă IG							
Cantitatea cel este stabilă							
Cantitatea cel variază							

Finalități:

1. Să cunoașteți locul și funcția biopolimerilor în sistemele biologice.
2. Să știți modul de organizare și proprietățile acizilor nucleici și proteinelor.
3. Să înțelegeți relația ADN → ARN → proteină.
4. Să știți particularitățile de organizare a ADN-ului celulei umane.

*** Test de autoevaluare

1. Verificați corectitudinea afirmațiilor, bifând A pentru adevărat și F pentru fals.

- a) Reacția de sinteză a polimerilor se numește hidroliză. A F
b) Structura secundară a proteinelor, α -spirale și β -structuri, se datorează legăturilor covalente și reprezintă o succesiune de aminoacizi. A F
c) Glicogenul, amidonul și celuloza sunt polimeri formați din glucoză. A F
d) O proteină cu structura cuaternară conține 4 domenii. A F

2. Completați propozițiile

- a) Mecanismele _____, reparării, recombinării, transcripției sunt asigurate de _____ ADN.
b) Cele patru baze ale ADN-ului ____, ____, ____, ____ nu se pot combina decât într-un anumit mod, după principiul _____, și anume: _____ doar cu _____, și _____ doar cu _____; cu alte cuvinte, o bază _____ se combină cu o bază _____, și invers.
c) Complexul format din ARN și proteine se numește _____, ceea ce prezintă structura _____. În calitate de exemple ale unei astfel de structuri pot servi: _____, _____, _____.
d) Care substanțe de natură proteică facilitează descompunerea moleculelor mari? _____ Exemple: _____, _____, _____, _____, _____.

Selectați răspunsurile corecte:

3. Gruparea funcțională - NH₂ este o:

- a) grupare carboxil; b) grupare amino; c) grupare hidroxil; d) grupare fosfat; e) grupare carbonil

4. Glucoza este: a) proteină; b) dizaharidă; c) acid nucleic; d) monozaharidă; e) polizaharidă

5. Toate cele expuse mai jos sunt adevărate în cazul denaturării proteinelor, cu excepția:

- a) este o modificare conformațională; b) este mereu ireversibilă; c) poate fi cauzată de o modificare a pH; d) poate rezulta dintr-o modificare de temperatură. Argumentați răspunsul.

6. Asociați macromoleculele cu funcțiile și caracteristicile corespunzătoare:

- | | |
|------------------------|--|
| 1) ARNm | A) Translator al codului genetic, transportor al aminoacizilor |
| 2) ARNt | B) Controlul translației, component al ribozomilor |
| 3) ARNr | C) Matriță pentru translație |
| 4) ARN de interferență | D) Este bicatenar și se implică în reglarea posttranscripțională a genelor |
| 5) ARNhn | E) Este monocatenar și se implică în expresia IG |
| 6) ARNsn | F) Component al enzimelor implicate în metabolismul acizilor nucleici |
| | G) Reprezentat prin molecule de ARN precursor |

7. Asociați macromoleculele cu monomerii și legăturile covalente corespunzătoare:

- | | |
|-----------------|--|
| 1) ADN | A) conțin din acizi grași și sunt atașați prin legături esterice |
| 2) proteine | B) monomerii se unesc prin legături glicozidice |
| 3) ARN | C) succesiune polinucleotidică cu legături de hidrogen |
| 4) lipide | D) succesiune polinucleotidică cu legături fosfodiesterice |
| 5) polizaharide | E) succesiune de aminoacizi cu legături peptidice |
| | F) se sintetizează în rezultatul reacției de condensare |
| | G) se distrug prin hidroliză |

8. Analizați datele de mai jos:

a) În cadrul unor experiențe, au fost extrase și purificate fragmente de ADN și ARNm. Analiza compozițională a catenelor de ADN și ARNm a relevat următoarele:

	A	G	C	T	U
ADN catena #1	19	26	31	24	0
ADN catena #2	24	30	25	19	0
ARNm	19	26	31	0	24

Care catenă ADN servește drept matriță pentru sinteza ARNm?

A) catena 1; B) catena 2; C) ambele catene; D) nici o catenă; E) sunt insuficiente date pentru răspuns. Argumentați răspunsul:

9. Un copil de 4 ani este trimis de către medicul pediatru la neurologul pediatric după apariția la copil a convulsiilor mioclonice și a acidozei lactice. Medicul neurolog indică efectuarea unei biopsii musculare, iar rezultatele acesteia au relevat „fibre roșii rupte”. Părinții au fost informați despre prezența la copil a sindromului MERFF, o patologie a ADN-ului mitocondrial. Care din următoarele enunțuri sunt corecte cu referire la ADN-ul mitocondrial?

- (A) este moștenit în mod egal de la ambii părinți
- (B) este replicat fidel și în concordanță cu ADN-ul nuclear
- (C) transmite aceeași informație ca și ADN-ul nuclear
- (D) prezintă o structură circulară dublu-catenară
- (E) codifică informația genetică pentru toate proteinele necesare lanțului respirator?

10. Un student în anul doi la medicină studiază într-un laborator reglarea expresiei genelor la șoareci, pe un model de carcinom hepatocelular. El izolează acizii nucleici din celulele hepatice după expunerea la un agent cancerigen cunoscut și analizează secvențe. Studentul este surprins să constate că unele dintre nucleotide sunt pseudouridine și ribotimidine. Ce tip de acid nucleic a izolat probabil studentul?

- (A) ARNt
- (B) ARNr
- (C) ARNhn
- (D) ARNm
- (E) RNPSn

11. Analizați următoarea informație:

Tipurile specifice de diabet zaharat reprezintă un grup de tulburări ce includ defecte ale funcționării celulelor beta care afectează secreția insulinei și disfuncția localizărilor receptorilor de insulină afectând acțiunea insulinei (rezistență la insulină).

Cum considerați: la nivelul cărei molecule s-a produs defectul ce a rezultat în rezistență la insulină?

A) ADN; B) ARNm; C) RNP; D) proteină; E) glucoză. Argumentați răspunsul.

12. Virusurile imunodeficienței umane sunt retrovirusuri de 90-120 nm în diametru, alcătuite din molecule de ARN ca suport genetic și o enzima transcriptază inversă, care catalizează reverstranscripția ARN în ADN proviral dublu helicoidal, după informația conținută în ARN. Acest ADN proviral se integrează în genomul celulei gazdă sub acțiunea unei alte enzime "integraza".

Utilizând informația de mai sus, completați afirmațiile:

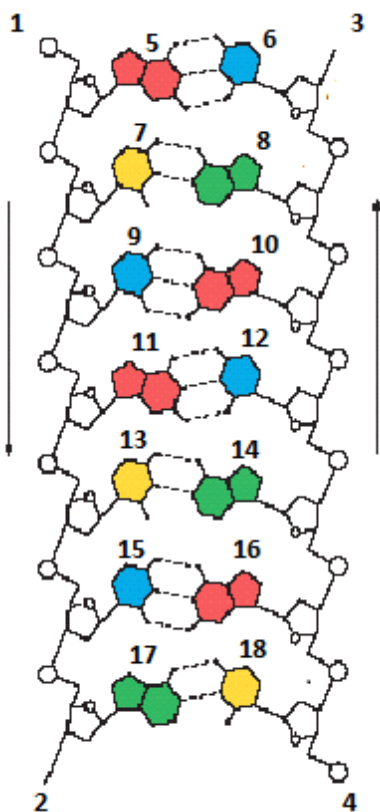
În virusul imunodeficienței umane informația genetică se conține în molecula de _____. Suportul genetic al virusului conține genele ce codifică _____ și _____. Dideoxycitidina este un preparat care acționează antiviral probabil prin blocarea transcripției inverse, adică prin inhibarea expresiei genei _____.

13. Asociați nivelele de organizare a macromoleculele cu caracteristicile corespunzătoare:

- | | |
|-------------------------|--|
| 1) Structura primară | A) asigurată de legături covalente |
| 2) Structura secundară | B) asigurată de legături de hidrogen |
| 3) Structura terțiară | C) caracteristică doar proteinelor multimerice |
| 4) Structura cuaternară | D) prezentată de α -spirale și β -structuri |
| | E) apare sub forma de DNP și RNP |
| | F) este o succesiune de monomeri |
| | G) prezentată de bucle și dublu helix |

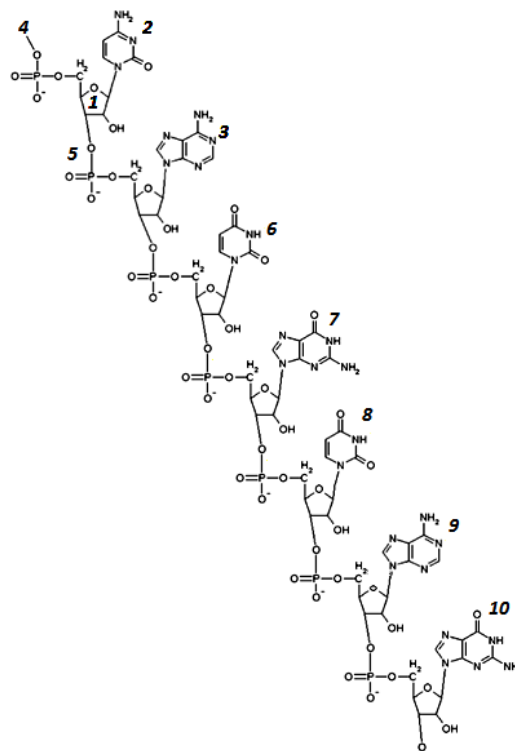
14. Descifrați legenda figurii

.....:

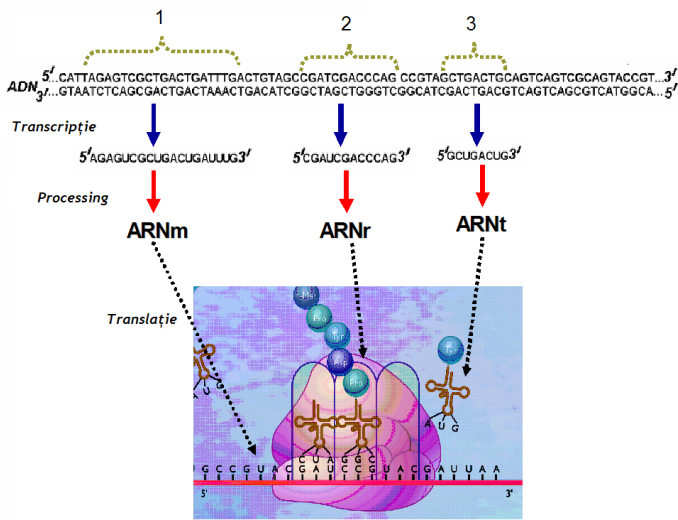


15. Descifrați legenda figurii

.....:



16. Definiți regiunile ce corespund cifrelor din figura de mai jos:



1. _____
2. _____
3. _____

Funcțiile ARNm:

- a.
- b.

Funcțiile ARNr:

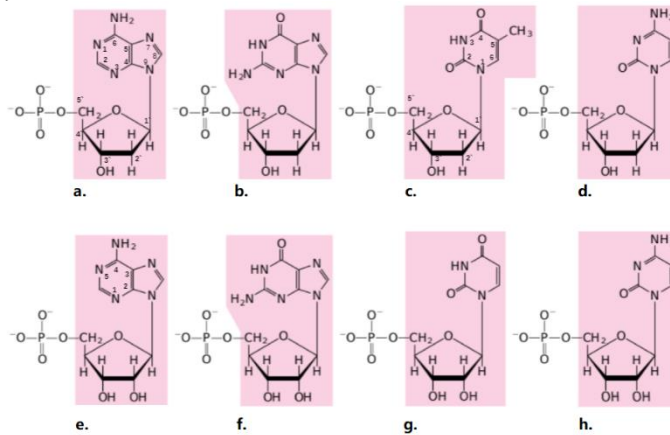
- a.
- b.

Funcțiile ARNt:

- a.
- b.

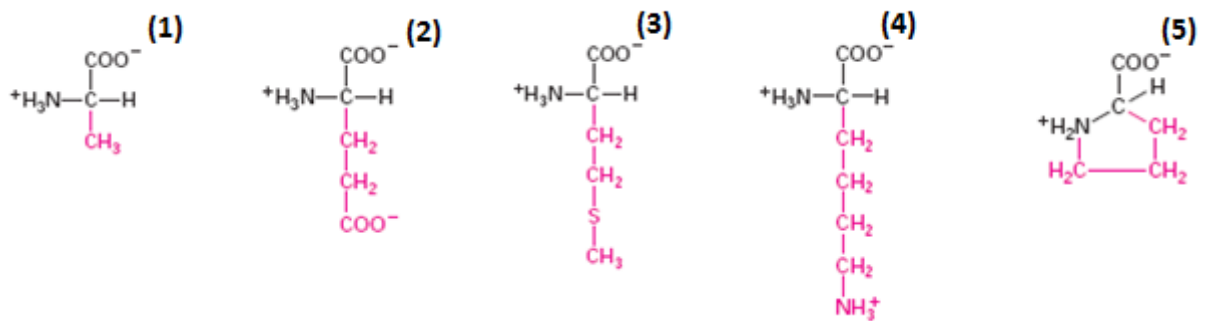
Analizați anexele și completați răspunsurile la subiectele de mai jos:

17. Identificați nucleotidele:



- A. Scrieți denumirea fiecărei molecule:
- B. Identificați monomerii ADN-ului:
- C. Identificați monomerii ARN-ului:

18. Identificați aminoacizii:



19. Descifrați secvența:



LUCRAREA PRACTICĂ Nr. 3

MEMBRANELE BIOLOGICE

Membranele biologice sunt structuri continui, compuse în principal din lipide și proteine asociate cu lanțuri oligozaharidice, care asigură compartimentarea materiei vii, având proprietăți caracteristice de permeabilitate. Se pot distinge mai multe categorii de membrane celulare:

- membrana citoplasmatică (plasmalema), ce separă celulele de mediul înconjurător, mențin individualitatea celulei; formează bariere cu o permeabilitate foarte selectivă, prin care se realizează schimburile între celule și mediul înconjurător;
- membranele organelor celulare (membrana dublă a mitocondriilor, membrana lizosomilor, reticulului endoplasmatic, a aparatul Golgi, peroxisomilor, membrana dublă a nucleului) care asigură compartimentarea materiei vii prin formarea unor spații intracelulare în care se desfășoară anumite reacții în condiții optime;
- membranele speciale: teaca de mielină care înconjoară axonii neuronilor, produsă de celulele Schwann; discurile segmentului extern al celulelor-bastonase din retină ce se formează prin plierea membranei citoplasmatică, urmată de detașarea discurilor; granulele secretorii ale celulelor cu funcție exocrină sau endocrină; incluziunile; etc.

Membranele intervin efectiv în desfășurarea proceselor metabolice. Interacțiunile lipo-proteice în membrane sunt esențiale pentru funcția enzimelor de membrană. Membranele controlează fluxul de informație între celule și mediu prin receptori specifici pentru stimulii externi. Ele au capacitatea de a genera semnale chimice sau electrice cu rol în comunicarea biologică. Membranele au proprietatea de a suferi modificări funcționale adaptive, au rol în procesele de apărare imună ale celulelor și organismului.

Numeroase stări patologice la om au ca substrat defecte ale proteinelor membranare:

- mucoviscidoza – defectul canalului Cl⁻;
- hipercolesterolemia familială – defectul receptorului LDL;
- una din formele de diabet insipid – defect al aquaporinei 2;
- sindromul Moris (testicul feminizant) – defect al receptorului la testosteron;
- boala Laron – defect al receptorului la hormonul de creștere.

Subiecte pentru discuție:

1. Organizarea moleculară a membranelor biologice.
2. Tipurile de membrane celulare și caracteristica lor comparativă.
3. Funcțiile majore ale plasmalemei.
4. Transportul membranar.
5. Particularitățile transportului vezicular.
6. Biogeneza membranelor.

1. Definiți noțiunile:

✓ Plasmalemă

✓ Barieră biologică

✓ Compartiment celular

✓ Permeabilitate selectivă

✓ Permează

✓ Aquaporină

✓ Antigen membranar

✓ Canal ionic

✓ Simport

✓ Ligand

✓ Receptor

✓ Endosom

✓ Transcitoză

2. Completați tabelul: „Diversitatea membranelor celulare”

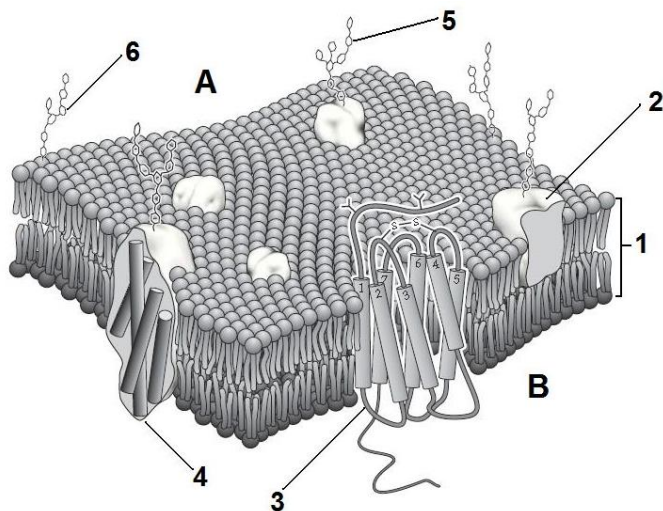
Tipuri de membrane	Caracteristica	Funcția
Plasmalema		
Anvelopa nucleară		
Membrana RE neted		
Membrana RE rugos		
Membrana aparatului Golgi		
Membrana mitocondrială externă		
Membrana mitocondrială internă		
Membrana lizosomilor		
Membrana peroxisomilor		

*Analizând tabelul evidențiați:

1. prin ce se aseamănă membranele celulare

2. care sunt deosebirile principale

3. Completați legenda schemei de mai jos.



a) Găsiți suprafața extra- și intracitoplasmatică a plasmalemei:

- A.
- B.

b) Numiți componentele moleculare ale plasmalemei:

- 1.
- 2.
- 3.
- 4.
- 5.
- 6.

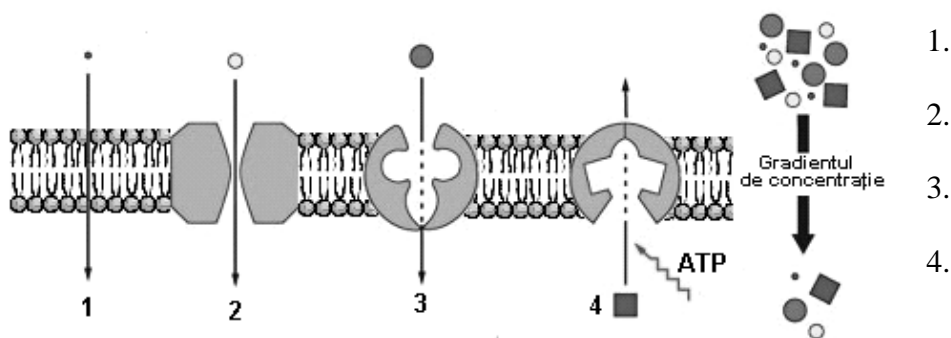
4. Completați tabelul: „Caracteristica componentelor moleculare ale membranelor biologice”

Componenta	Tipuri	Proprietăți	Funcții
Lipide			
Proteine			
Glucide			

*Analizând tabelul evidențiați care dintre componentele membranei au o valoare mai importantă din punct de vedere:

- a) funcțional -
- b) structural -
- c) al specificității -

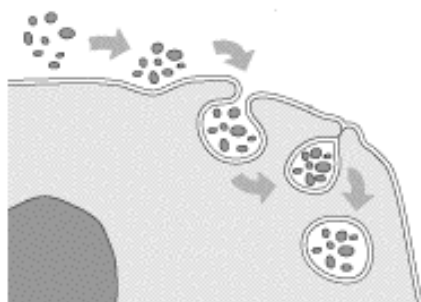
5. Analizați figura, descifrați legenda răspundeți la întrebările de mai jos:



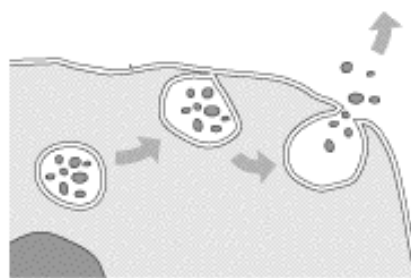
Care este substratul (substanța transportată):

- în difuzia simplă _____,
- pentru canale _____,
- pentru difuzia facilitată _____,
- pentru pompele ATP-azice _____.

6. Completați legenda figurii:



A. _____



B. _____

Ce substanțe sunt endocitate în celulă?

Ce substanțe sunt exocitate din celulă?

7. Analizând toate cele de mai sus încercați să completați tabelul următor:

Proteine membranare	Distribuție	Rol biologic	Consecințele defectului
Na ⁺ /K ⁺ -ATP-aza			
CFTR Cl ⁻ -ATP-aza			
H ⁺ /K ⁺ -ATP-aza			
Aquaporina 1			
Aquaporina 2			
Spectrina			
Receptorul LDL			
Receptorul insulenic			
MDR1 P-glicoproteină			
RGH (receptorul hormonului de creștere)			
Ca ⁺⁺ -ATP-aza			

Opsina			
TcR			
Gs[olf] (proteina receptor olfactiv, GTP dependent)			
Cu ⁺⁺ -ATPaza			
FGFR			

Finalități:

1. Să cunoașteți particularitățile de organizare moleculară a membranelor celulare.
2. Să înțelegeți rolul membranelor în compartimentarea celulară.
3. Să înțelegeți rolul membranelor în susținerea homeostaziei celulare.
4. Să știți funcțiile principale ale plasmalemei și responsabili moleculari.
5. Să puteți evalua valoarea cunoștințelor Dv. la acest subiect în înțelegerea mecanismelor ce stau la baza bolilor umane.

Formulați 5 concluzii referitoare la proteinele membranare:

1. _____
2. _____
3. _____
4. _____
5. _____

Test de autoevaluare:

1. Asociați moleculele cu funcția lor în plasmalemă:
 1. Proteine
 2. Fosfolipide
 3. Colesterol
 4. Oligozaharide
 5. Glicolipide
 - A. Barieră
 - B. Recepție
 - C. Adezivă
 - D. Transport
 - E. Rezistență

2. Asociați moleculele cu proprietățile membranelor biologice
 1. Proteine
 2. Fosfolipide
 3. Colesterol
 4. Oligozaharide
 5. Glicolipide
 - A. Permeabilitate selectivă
 - B. Fluiditate
 - C. Elasticitate
 - D. Individualitate
 - E. Catalitică

3. Fosfolipidele au următoarele proprietăți:
A. Autoasamblare; B. Catalitică; C. Structură amfifilă; D. Eterogenitate; E. Antigenice.

4. Colesterolul are următoarele funcții:
A. Conferă individualitate plasmalemei; B. Asigură elasticitatea membranei; C. Are rol de receptori; D. Are rol catalitic; E. Conferă rezistență mecanică plasmalemei.

5. Glicocalixul are următoarele funcții:
A. Termoreglatoare; B. Semnalizare; C. Transport; D. Receptor; E. Enzimatică.

6. Na-K ATP-aza are următoarele funcții:
A. Transportul ionilor Na-K prin simport; B. Reglarea pH celular; C. Asigură potențialul de membrană; D. Reglează presiunea osmotică în celulă; E. Transportul ionilor Na-K prin antiport.

7. Membranele interne se deosebesc între ele prin:
A. Prin eterogenitatea fosfolipidelor; B. Prin complexul de enzime; C. Prin eterogenitatea proteinelor; D. Prin funcția pe care o îndeplinesc; E. Prin conținutul de polizaharide .

8. Transportul macromoleculelor poate fi:
A. În direcția gradientului electrochimic; B. Prin difuzie simplă; C. Vezicular; D. Prin endocitoză; E. Prin ionofori.

9. Contactele celulare:
A. Asigură asocierea celulelor în țesuturi; B. Determină transportul substanțelor; C. Formează matricea extracelulară; D. Apar cu participarea elementelor citoscheletului; E. Contacte strânse apar numai între celulele epiteliale.

10. Anvelopa nucleară
A. Are două membrane; B. Glicocalixul este orientat spre matricea nucleară ; C. Porii nucleari au structură lipoproteică; D. Continuă cu membranele reticulului endoplasmatic neted; E. Pe suprafața anvelopei nucleare se pot conține ribozomi.

11. Proteinele membranare au următoarele proprietăți:
A. Au funcție catalitică; B. Conferă formă celulei; C. Au specificitate de țesut; D. Sunt eterogene; E. Asigură permeabilitatea selectivă a membranelor.

12. Individualitatea biologică a membranei este determinată de prezența:
A. Diferitor proteine; B. Diferitor fosfolipide; C. Diferitor oligozaharide; D. Receptorilor celulari; E. Concentrației diferite de colesterol.
13. Pompa Na-K are următoarele caracteristici:
A. Este un ionofor; B. Este o ATP-ază; C. Este un canal antiport; D. Reglează presiunea osmotică celulară; E. Facilitează transportul aminoacizilor în celulă.
14. Fagocitoza se caracterizează prin:
A. Reprezintă o variantă a endocitozei; B. Se poate realiza prin reacția ligand-receptor; C. Se poate realiza prin reacția ligand-ligand; D. Asigură transportul macromoleculor din celulă în spațiul extracelular; E. Se realizează cu ajutorul unei proteine transportor.
15. Desmozomii se caracterizează prin:
A. Reprezintă contacte strânse între celule; B. Asigură alipirea celulelor cu ajutorul proteinelor matricei extracelulare; C. Asigură alipirea celulelor cu ajutorul proteinelor fibrilare; D. Reprezintă canale permeabile între celulele epiteliale; E. Sunt responsabile de unirea celulelor în țesuturi.
16. Transportul pasiv al micromoleculor se caracterizează prin următoarele:
A. Este cu consum de energie; B. Se realizează indiferent de gradientul electrochimic; C. Se realizează prin ionofori; D. Se realizează datorită fluidității bistratului lipidic; E. Astfel sunt transportate numai substanțele liposolubile.
17. Plasmalema are următoarele funcții:
A. Protecție; B. Enzimatică; C. Transport de substanțe; D. Apărare imună; E. Reglarea pH celular.
18. Selectați organite membranare celulare:
A. Desmozomi; B. Ribozomi; C. Lizosomi; D. Aparatul Golgi; E. Reticul endoplasmatic.
19. Selectați elementele caracteristice CFTR:
A. Este o proteină membranară; B. Este reglator al transportului ionilor de Cl; C. Reglează concentrația de săruri în secretele glandelor exocrine; D. Asigură funcționarea normală a epitelului renal; E. Asigură funcționarea normală a epitelului bronhial.
20. Identificați funcția LDLR:
A. Transport membranar; B. Catalizator membranar; C. Adeziune intercelulară. D. Receptor membranar; E. Semnalizare membranară.
21. Selectați monomerii aquaporinei:
A. Val; B. Ser; C. His; D. Thr; E. Pro.
22. Selectați monomerii spectrinei eritrocitare:
A. Val; B. Ser; C. His; D. Thr; E. Pro.
23. Găsiți localizarea caracteristică a Na⁺/K⁺-ATPazei:
A. Plasmalema hepatocitului; B. Plasmalema neuronului; C. Plasmalema epitelocitului; D. Plasmalema miocitului; E. Plasmalema amniocitului.
24. Proteina responsabilă de hipercolesterolemia familială cu risc pentru ateroscleroză și accidente vasculare este:
A. CFTR; B. H⁺-ATPaza; C. Aquaporina 1; D. Aquaporina 2; E. LDLR.

25. Analizați șirul și excludeți noțiunea ce nu se potrivește lanțului logistic: aquaporina, spectrina, cardiopina, opsina, Ca⁺⁺-ATPaza, receptorul insulenic, CFTR. Argumentați alegerea:

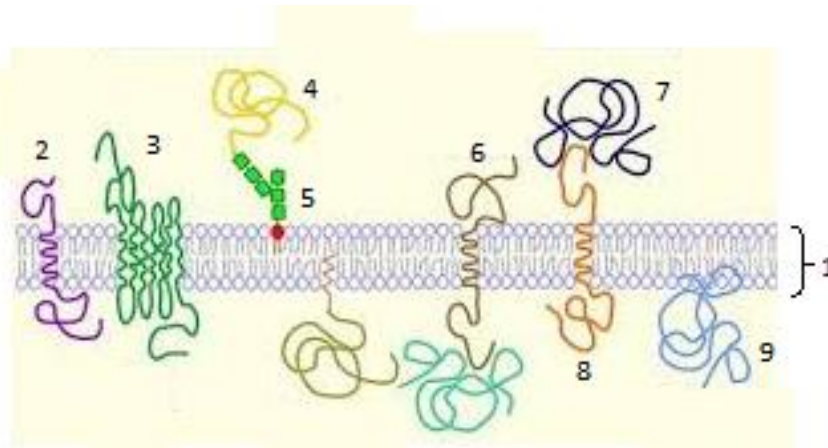
26. Clasificați moleculele după funcția pe care o realizează în membrane:
 H⁺-ATP-aza, Ca⁺⁺-ATP-aza, clatrina, receptorul insulenic, aquaporina, riboforina, cardiopina, fosfolipide, colesterol, spectrina, receptor LDL, opsina.

_____	_____	_____	_____	_____
_____	_____	_____	_____	_____
_____	_____	_____	_____	_____
_____	_____	_____	_____	_____
_____	_____	_____	_____	_____

27. Faceți o caracteristică comparativă a membranelor celulare:

Plasmalema	Asemănări	Membrane interne

28. Analizați figura și descifrați legenda:



LUCRAREA PRACTICĂ Nr. 4

COMPARTIMENTAREA CELULEI EUCARIOTE

Celula eucariotă este împărțită în mai multe compartimente funcțional distincte, înconjurate de membrane (organite celulare). Fiecare compartiment celular sau organit membranar, are setul său specific de enzime și alte molecule specializate; între ele există un sistem complex de comunicare prin repartizarea produselor specifice dintr-un compartiment în altul. Rolul principal în compartimentare îl au proteinele, care catalizează reacțiile ce decurg în fiecare organit, transferă selectiv moleculele și ionii în și din organit. Proteinele reprezintă pentru organite și marcheri specifici de suprafață, care ghidează noile partide de proteine și lipide la compartimentul corespunzător. Astfel, specializarea organitelor este determinată de mecanismele de sinteză și sortare a componentelor moleculare ale membranelor care le delimitează. Membranele diferitelor organite diferă atât prin proporția de proteine, lipide și glucide, cât și prin heterogenitatea acestora, care explică specializarea funcțională.

Nucleul păstrează 95-98% din genomul celular și asigură desfășurarea proceselor genetice de bază – sinteza ADN și ARN. Citosolul reprezintă tot spațiul intern semilichid al citoplasmei în care sunt scufundate organitele. Citoscheletul – partea fibrilară a citoplasmei asigură sprijinul organitelor și motilitatea celulară. Citosolul este responsabil de desfășurarea unor reacții metabolice cum ar fi glicoliza, sinteza aminoacizilor, nucleotidelor, etc. Reticulul endoplasmatic asigură fixarea ribosomilor și, astfel, sinteza unei părți importante de proteine integrale și secretate; sinteza lipidelor pentru toate membranele celulare, detoxifierea xenobioticilor. Aparatul Golgi este implicat în modificarea conformațională a proteinelor și lipidelor, pentru sortarea lor la punctul de destinație. Mitocondriile sunt responsabile de respirația celulară și sinteza ATP, asigurând cu energie toate procesele din celulă. Lizosomii conțin enzime hidrolitice ce scindează specific diferiți compuși organici din celulă sau cei endocitați. Peroxisomii, care conțin în special oxidaze, sunt responsabili de neutralizarea unor metaboliți toxici. Organitele celulare comunică între ele prin intermediul unor vezicule de transport care „înmușurează” de la o membrană și se contopesc cu alta. Defectele în căile de sortare și semnalizare intracelulară pot avea consecințe patologice serioase, iar înțelegerea lor reprezintă cheia succesului în diagnosticul și întreruperea lanțului patologic în multe boli umane.

Subiecte pentru discuții:

1. Rolul biologic al compartimentării celulei eucariote.
2. Specializarea organitelor celulare.
3. Biogeneza organitelor celulare.
4. Clasificarea organitelor celulare (găsiți mai multe criterii).
5. Căile de sortare a proteinelor secretate.
6. Organizarea moleculară și funcția citoscheletului.

1. Completați tabelul: „Caracteristica unor elemente celulare”

	Caracteristică
Compartiment celular	
Organit membranar	
Lizosom	
Matrice	
Lumen	
Ribosom	
Zona <i>cis</i> a AG	
Joncțiune celulară	
Endosom	
Crinofagie	

2. Completați tabelul: „Criterii de clasificare a organitelor celulare”

	Organite celulare
Unimembranare	
Bimembranare	
Amembranare	
Obligatorii	
Provizorii	
Speciale	

***Găsiți alte criterii de clasificare a organitelor celulare.

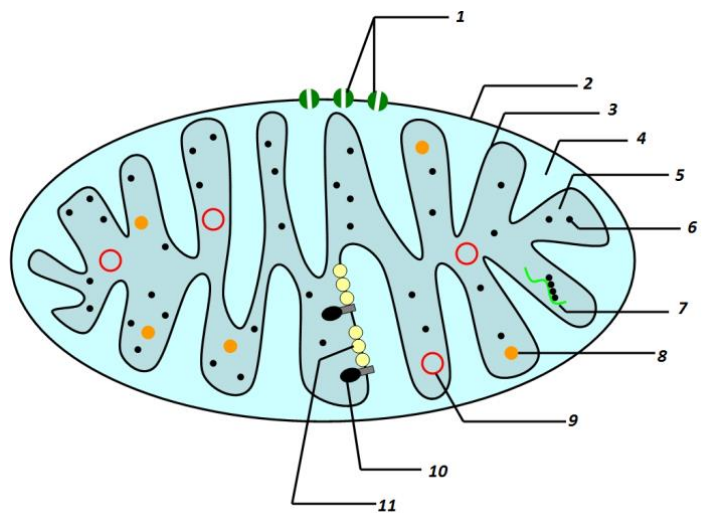
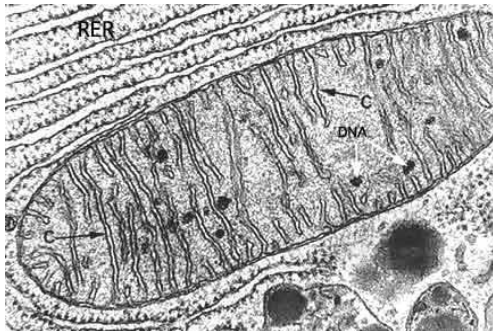
3. Completați tabelul: „Clasificarea enzimelor și locul lor în celulă”

Clase de enzime	Exemple	Funcții	Procese catalizate	Localizare în celulă
Sintetaze = Ligaze	ADN-polimeraze			
	ARN-polimeraze			
	ADN-ligaze			
	Glicogen-sintetaza			
	Poli(A)-polimeraza			
	Telomeraza			
	ATP-sintetaza			
Hidrolaze	proteaze			
	endonucleaze			
	exonucleaze			
	glicozidaze			
	lipaze			
	fosfolipaze			
	ADN-aze			
	ARN-aze			
	peptidaze			
	Serine endopeptidase			
	Cysteine endopeptidase			
	Aspartic endopeptidase			
Izomeraze	ADN-topoizomeraza I			
	ADN-topoizomeraza II			
Oxido-reductaze	Cytochrome oxidase			
	Catalaza			
	D-aminoacil-oxidaza			
Transferaze	Glicozil-transferaze			
	Peptidil-transferaze			
	Fosfokinaze			
Liaze	Carboxy-lyase			
	Aldehyde-lyase			
	Oxo-acid-lyase			

4. Completați tabelul: „Particularitățile specializării funcționale ale organelor celulare”

	Set de proteine specifice	Rol biologic
Plasmalema		
Nucleul		
RE neted		
RE rugos		
Aparatul Golgi		
Mitocondriile		
Lizosomii		
Peroxisomii		

5. Completați legenda, dați denumire figurilor A și B.



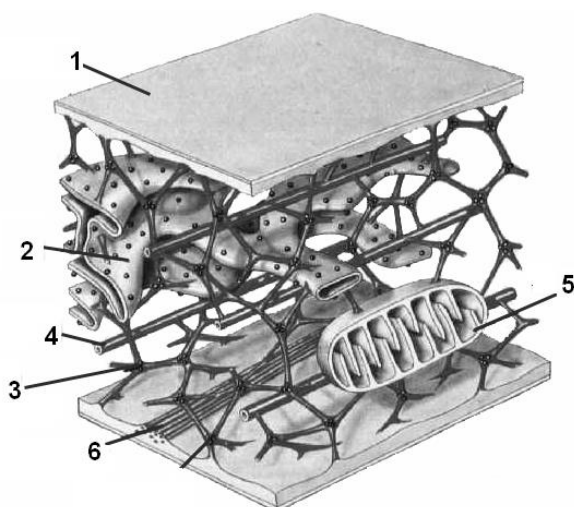
6. Completați tabelul: de mai jos și faceți 3 concluzii referitor la relația dintre locul sintezei și locul maturizării macromoleculelor prezentate în tabel:

	Locul sintezei	Locul maturizării	Locul scindării
ADN			
ARNm			
ARNr			
ARNt			
Proteine histone			
Cardiolipine			
Spectrina			
H ⁺ -ATP-aza			
Colesterolul			
Fosfolipidele			
ADN-polimeraza			
Tubulina			

Concluzii:

1. _____
2. _____
3. _____

7. Completați legenda, dați denumire figurii:

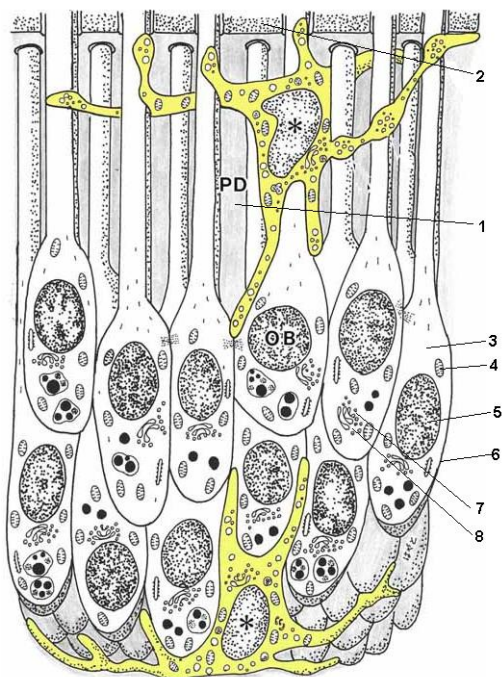


1. _____
2. _____
3. _____
4. _____
5. _____
6. _____

8. Completați tabelul: „Caracteristica citoscheletului”

Elementele citoscheletului	Organizare moleculară	Funcții	Răspândire în celulă
Microtubuli			
Microfilamente			
Filamente intermediare			

9. Pe schema de mai jos sunt prezentați odontoblaștii – celule responsabile de sinteza și secreția predentinei (1), care prin calcificare se fa transformă în dentină (2). Descifrați legenda și indicați funcțiile fiecărui component al odontoblastului:



- 1 - _____
- 2 - _____
- 3 - _____
- 4 - _____
- 5 - _____
- 6 - _____
- 7 - _____
- 8 - _____

Finalități:

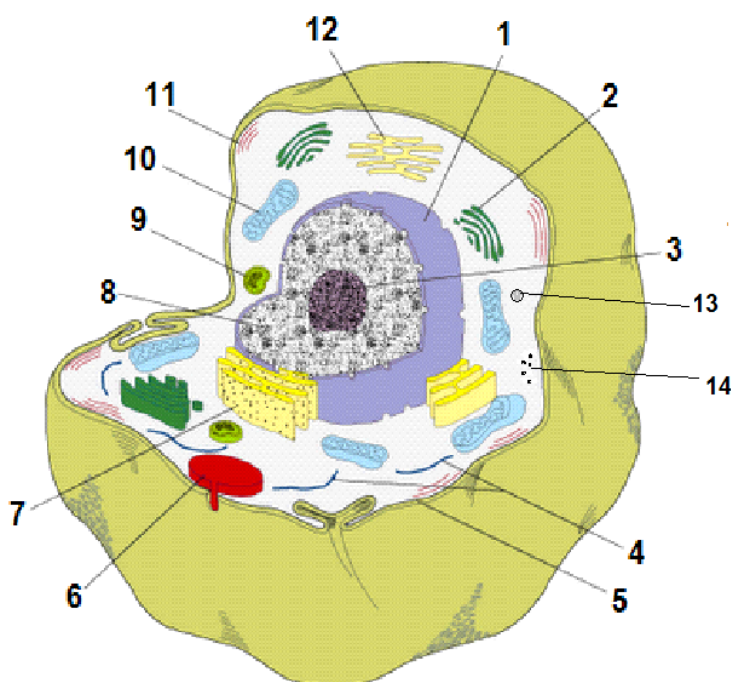
1. Înțelegerea organizării celulei eucariote și rolului compartimentării.
2. Să știți ce mecanisme stau la baza specializării diferitor compartimente celulare.
3. Să puteți aprecia ce legătură există între sortarea macromoleculor în celulă și biogeneza membranelor celulare.
4. Înțelegerea implicațiilor medicale ale defectelor căilor de sortare intracelulară.

Formulați 5 întrebări referitor la mecanismele de specializare a organelor celulare.

1. _____
2. _____
3. _____
4. _____
5. _____

Test de autoevaluare:

1. Descifrați legenda figurii:



2. Asociați organele cu funcția lor în celulă:

- | | |
|----------------|----------------------------|
| 1. RE neted | A. Oxidarea acizilor grași |
| 2. RE rugos | B. Sinteza lipidelor |
| 3. AG | C. Sinteza glicogenului |
| 4. Mitocondrii | D. Hidroliza proteinelor |
| 5. Lizozomi | E. Sinteza polipeptidelor |

3. Asociați componenta citoscheletului cu funcția îndeplinită:

- | | |
|---------------------------|--|
| 1. Filamente de actină | A. Participă la formarea joncțiunilor celulare |
| 2. Microtubulii | B. Motilitatea membranei plasmatice |
| 3. Centriolul | C. Parte componentă a flagelului |
| 4. Filamente intermediare | D. Asigură mitoza |
| 5. Corpusculul bazal | E. Determină forma organelor celulare |

4. Asociați organitul cu componenta caracteristică:

- | | |
|----------------|---------------------------|
| 1. Peroxisomii | A. Riboforina |
| 2. RE rugos | B. Porina |
| 3. Centriolii | C. H ⁺ ATP-aza |
| 4. Mitocondrii | D. Catalaza |
| 5. Lizozomi | E. Tubulina |

5. Asociați funcția citoscheletului cu componenta respectivă:

- | | |
|---------------------------|------------------|
| 1. Sprijin | A. Actina |
| 2. Motilitatea flagelilor | B. Tubulina |
| 3. Diviziune celulară | C. Cardioplipina |
| 4. Con tracție musculară | D. Laminina |
| 5. Mișcările ameboidale | E. Miozina |

Selectați răspunsurile caracteristice componentelor celulare:

6. Reticulul plasmatic granulat:

A. Contactează cu anvelopa nucleară; B. Conține riboforine; C. Catalizează sinteza enzimelor lizozomale; D. Intervine în sortarea moleculelor proteice; E. Asigură transportul intracelular.

7. Aparatul Golgi:

A. Este format dintr-o membrană *cis* și una *trans*; B. Suprafața externă conține polizaharide; C. Veziculele lizozomale se desprind de la compartimentul *trans*; D. Veziculele *cis* sunt de origine RE; E. Veziculele *trans* sunt de origine endozomală.

8. Lizozomii:

A. Conțin sintetaze; B. Conțin catalaze; C. Conțin nucleaze; D. Conțin cardiopline; E. Conțin proteaze.

9. Peroxizomii:

A. Sunt organite membranare; B. Se formează de la RE; C. Se formează de la AG; D. Au funcție similară cu lizozomii; E. Reprezintă lizozomi reziduali.

10. Mitocondriile:

A. Membrana externă conține porina; B. Membrana internă conține enzime hidrolitice; C. Conțin informație genetică; D. Se autoreproduc; E. Asigură oxidarea glucozei.

11. Centriolii:

A. Sunt formați din actină; B. Sunt formați din tubulină; C. Sunt formați din triplete de microtubuli; D. Se conțin în toate celulele; E. Asigură mișcarea flagelului.

12. Citoscheletul:

A. Asigură asocierea celulelor în țesuturi; B. Determină transportul substanțelor; C. Formează matricea extracelulară; D. Este format din microtubuli și filamente de actină; E. Asigură diviziunea celulară.

13. Microfilamentele:

A. Sunt formate din tubulină; B. Sunt formate din laminină; C. Sunt formate din actină; D. Formează fusul de diviziune; E. Asigură formarea veziculelor endocitare.

14. Reticulul plasmatic neted:

A. Contactează cu anvelopa nucleară; B. Conține riboforine; C. Catalizează sinteza hidraților de carbon; D. Intervine în sortarea moleculelor proteice; E. Asigură transportul intracelular.

15. Aparatul Golgi:

A. Conține o regiune *cis* și una *trans*; B. Suprafața externă conține ribozomi; C. Veziculele lizozomale se desprind de la compartimentul *cis*; D. Veziculele *cis* sunt de origine RE; E. Veziculele *trans* reprezintă endozomi.

16. Lizozomii:

A. Conțin lipaze; B. Conțin porine; C. Conțin pompe H⁺; D. Conțin catalaze; E. Conțin proteaze.

17. Peroxizomii:

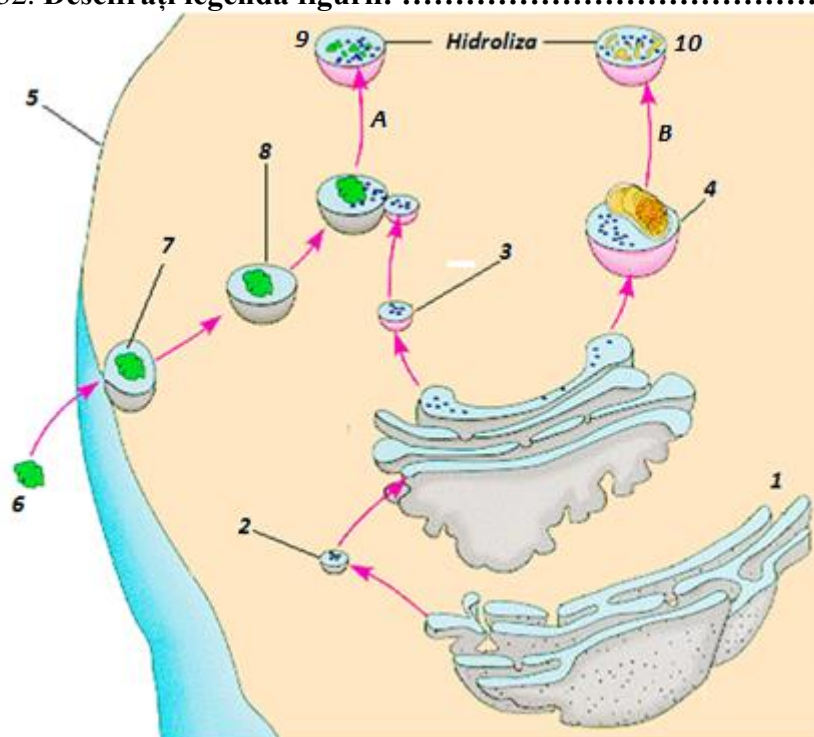
A. Sunt organite nemembranare; B. Se formează de la AG; C. Se formează de la RE; D. Reglează cantitatea de secret; E. Intervin în detoxifierea celulelor.

18. Mitocondriile:
A. Membrana externă conține cardiolipina; B. Membrana internă conține cardiolipina; C. Conțin ribozomi; D. Conțin ARN; E. Asigură oxidarea acizilor grași.
19. Flagelii eucariotelor:
A. Sunt formați din actină; B. Sunt formați din tubulină; C. Sunt formați din triplete de microtubuli; D. Se conțin în toate celulele; E. Sunt acoperiți cu plasmalemă.
20. Microtubulii:
A. Asigură asocierea celulelor în țesuturi; B. Determină transportul substanțelor; C. Formează matricea extracelulară; D. Este format din actină; E. Asigură diviziunea celulară.
21. Actina:
A. Formează centriolii; B. Formează flagelii; C. Formează miofibrilele; D. Formează fusul de diviziune; E. Asigură formarea veziculelor endocitare.
22. Peroxizomii conțin:
A. Oxidaze; B. Proteaze; C. Lipaze; D. Nucleaze; E. Catalaza.
23. Lizozomii conțin:
A. Oxidaze; B. Proteaze; C. Lipaze; D. Nucleaze; E. Catalaza
24. REn conține:
A. Enzime digestive; B. Sintetaze de lipide; C. Transferaze pentru neutralizarea xenobioticelor; D. ATP-aze; E. ATP-sintetaze.
25. REr conține:
A. Hidrolaze; B. Sintetaze de lipide; C. Riboforine; D. ATP-aze; E. ATP-sintetaze.
26. Aparatul Golgi conține:
A. Enzime digestive; B. Sintetaze de lipide; C. Clatrine; D. ATP-aze; E. ATP-sintetaze.
27. Aparatul Golgi conține:
A. Enzime digestive; B. Sintetaze de lipide; C. Clatrine; D. ATP-aze; E. ATP-sintetaze.
28. Membrana mitocondriei își reînnoiește componentele:
A. Fosfolipidele – în REn; B. Cardiolipinele – în REr; C. Proteinele – pe ribozomii REr; D. Proteinele – pe ribozomii liberi; E. Proteinele pe ribozomii 55S ai mitocondriei.
29. Clasificați proteinele după localizare:
Actina, Riboforina, Histona H1, ATP-sintetaza, Clatrina, Proteaza acidă, ADN-polimeraza, Catalaza, H⁺-ATPaza, Fosfolipaza acidă, LDLR, Opsina, Tubulina, ARN-polimeraza.
30. Clasificați proteinele după locul sintezei:
Actina, Riboforina, Histona H1, ATP-sintetaza, Clatrina, Proteaza acidă, ADN-polimeraza, Catalaza, H⁺-ATPaza, Fosfolipaza acidă, LDLR, Opsina, Tubulina, ARN-polimeraza.

31. Clasificați proteinele după locul maturizării:

Actina, Riboforina, Histona H1, ATP-sintetaza, Clatrina, Proteaza acidă, ADN-polimeraza, Catalaza, H⁺-ATPaza, Fosfolipaza acidă, LDLR, Opsina, Tubulina, ARN-polimeraza.

32. Descifrați legenda figurii:

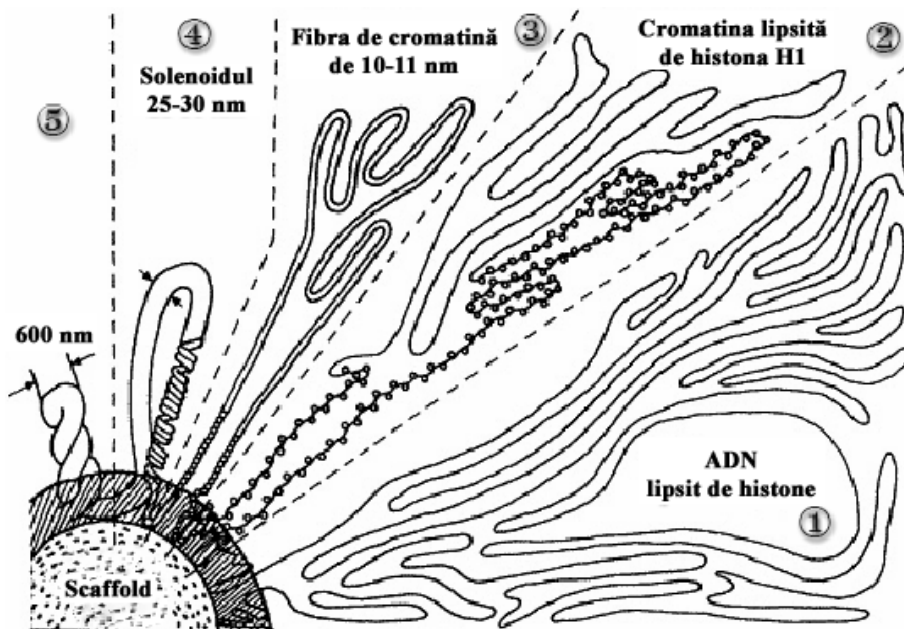


LUCRAREA PRACTICĂ Nr. 5

NUCLEUL

Nucleul reprezintă aparatul genetic al celulei. Sub anvelopa nucleară se păstrează 95-98% din ADN-ul celular. ADN-ul nuclear se află sub forma de molecule lungi liniare compactizate (în nucleele celulele umane se conțin 46 de molecule de ADN cu o lungime totală de ~ 2 m, 7×10^9 p.n.). Compactizarea ADN-ului este realizată de interacțiunea cu proteinele histone, a celor nehistone și a elementelor nucleoscheletului (*lamina fibrosa* și rețeaua de nucleoplasmine). În dependență de gradul de compactizare și mecanismul ce asigură compactizarea se disting patru nivele:

- **primului nivel – nucleosomic** – complexul format din molecula de ADN cu diametru de 2 nm ce interacționează cu proteinele histone; octamerele histonice (2H2A, 2H2B, 2H3 și 2H4) sunt înfășurate de segmente de ADN cu o lungime de ≈ 160 p.n., transformând complexul ADN-proteine histone în filament nucleoproteic polinucleosomic cu diametru de 11 nm ce asigură un grad de compactizare de circa 6 ori;
- **al doilea nivel de compactizare – solenoidul** – se formează în prezența H1 internucleosomală ce face ca filamentul de cromatină de 11 nm să se suprspiralizaze; se prezintă sub formă de fibră nucleoproteică de 30 nm, asigurând un grad de compactizare de circa 40 ori;
- **al treilea nivel de compactizare – buclele**, prin care solenoidul se fixează de axul proteic longitudinal al cromozomului (*scaffold*), format din proteine ale matricei nucleare; solenoidul interacționează specific cu scaffold prin intermediul SAR (regiuni situs specifice de ancorare) la SAP (proteine situs specifice ale axului cromozomial) care permit un grad de compactizare a materialului genetic interfazic de 600 – 1000 de ori;
- **al patrulea nivel – cromozomul metafazic** – se formează prin răsucirea buclelor în jurul axului cromozomial după pierderea contactului scaffold / anvelopă nucleară; fiecare spiră se formează din aproximativ 30 de rozete (bucle), buclele sunt orientate spre exteriorul cromozomului; stabilirea nivelului maximal de condensare de 100000 are loc în metafază.



Compactizarea materialului genetic are un rol deosebit în funcționarea ADN, posibilitatea lui de a fi transcris, expresia diferențiată a genelor în dependență de țesut / perioadă ontogenetică/ mediu /sex. Segmentele ADN-ului cromozomial puternic condensate ce nu pot fi transcrise se numesc heterocromatină, iar cele mai slab condensate ce se pot transcrie – eucromatină. Proteinele nonhistone sunt enzimele nucleare ce asigură replicarea ADN-ului și

posibilitatea transmiterii IG de la celulă la celulele fiice; reparația leziunilor din ADN ce asigură stabilitatea IG. Astfel, nucleul reprezintă aparatul genetic care păstrează, transmite și realizează IG asigurând controlul tuturor structurilor celulare, tuturor proceselor din celulă și organism. Cunoașterea modului de organizare a materialului genetic nuclear permite înțelegerea mecanismelor ce stau la baza proliferării celulare, diferențierii celulare, controlului ontogenezei și diferențelor dintre sexe.

Subiecte pentru discuții :

1. Organizarea moleculară a nucleului celulei.
2. Nivelele și mecanismele de compactizare ale ADN-ului nuclear.
3. Caracteristica comparativă a eucromatinei și heterocromatinei
4. Structura cromozomului metafazic.
5. Rolul biologic al heterocromatinei facultative.

1. Definiți noțiunile :

✓ Cromatină

✓ Cromozom

✓ Histonă

✓ Nonhistonă

✓ Nucleosom

✓ Solenoid

✓ SAR

✓ SAP

✓ Centromer

✓ Telomer

✓ Organizator nucleolar

2. Completați tabelul: „Organizarea nucleului interfazic”

Componenta	Organizarea moleculară
Anvelopa nucleară	
Complexul porului nuclear	
Cromatina	
Nucleolii	
Nucleoscheletul	

3. Dați nume figurilor 1 și 2 și completați legenda:

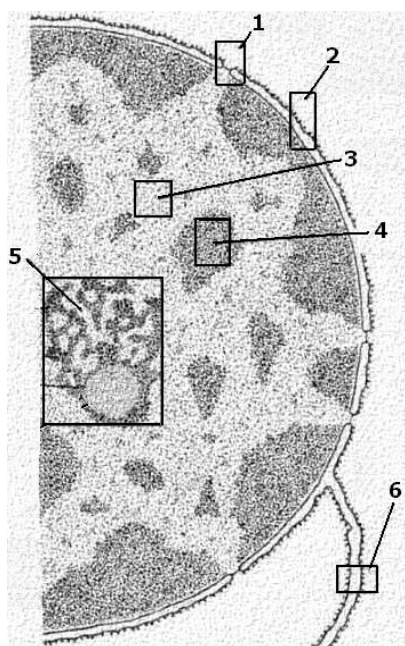


Fig. 1

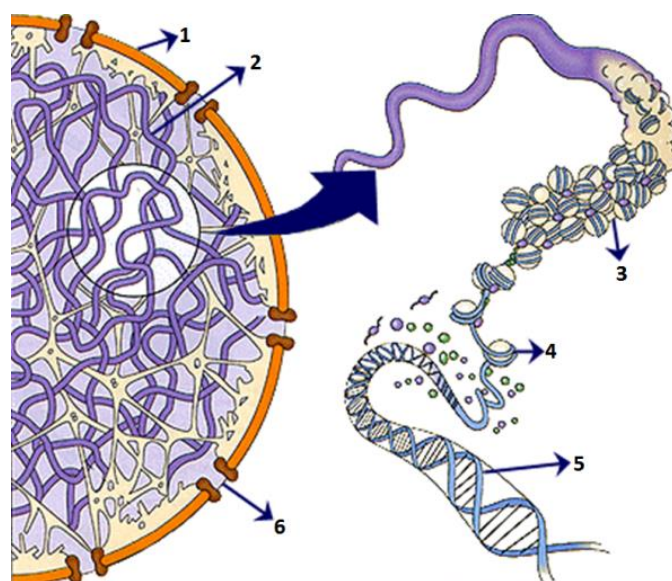


Fig. 2

4. Completați tabelul: “Caracteristica comparativă a proteinelor nucleare”

Caracteristici	Proteine histone	Proteine nehistone
Proprietăți		
Diversitate		
Funcții		
Rol biologic		
Exemple		

5. Completați tabelul: „Heterogenitatea ADN-ului nuclear”

Secvențe de ADN	Necesitatea transcripțională	Forma de prezentare în nucleu	Exemple
Unice, cu gene active în toate celulele			
Unice, cu gene active în anumit tip de celulele			
Unice, cu gene active în anumite perioade ontogenetice			
Unice, cu gene active numai la ♀ sau ♂			
Moderat repetitive, codificatoare de ARNt sau ARNr			
Moderat repetitive, codificatoare proteine histone			
Moderat repetitive, necodificatoare			
Înalt repetitive, necodificatoare			

6. Completați tabelul: „Nivele de compactizare a ADN-ului nuclear”

Nivel	Mecanismul de formare	Grad de compactizare	Eu- sau heterocromatină	Grad de activitate genetică
I				
II				
III				
IV				

7. Completați tabelul: „Caracteristica comparativă a tipurilor de cromatină”

	Euromatina	Heterocromatină constitutivă	Heterocromatină facultativă
Organizare moleculară			
Tipuri de secvențe ADN			
Grad de compactizare			
Activitate genetică			
Rol biologic			

10. În loc de concluzii completați tabelul ”Componentele moleculare ale nucleului celulelor umane”: (! Mai mult de 200 tipuri de celule diferite asigură structurile și funcțiile organismului uman)

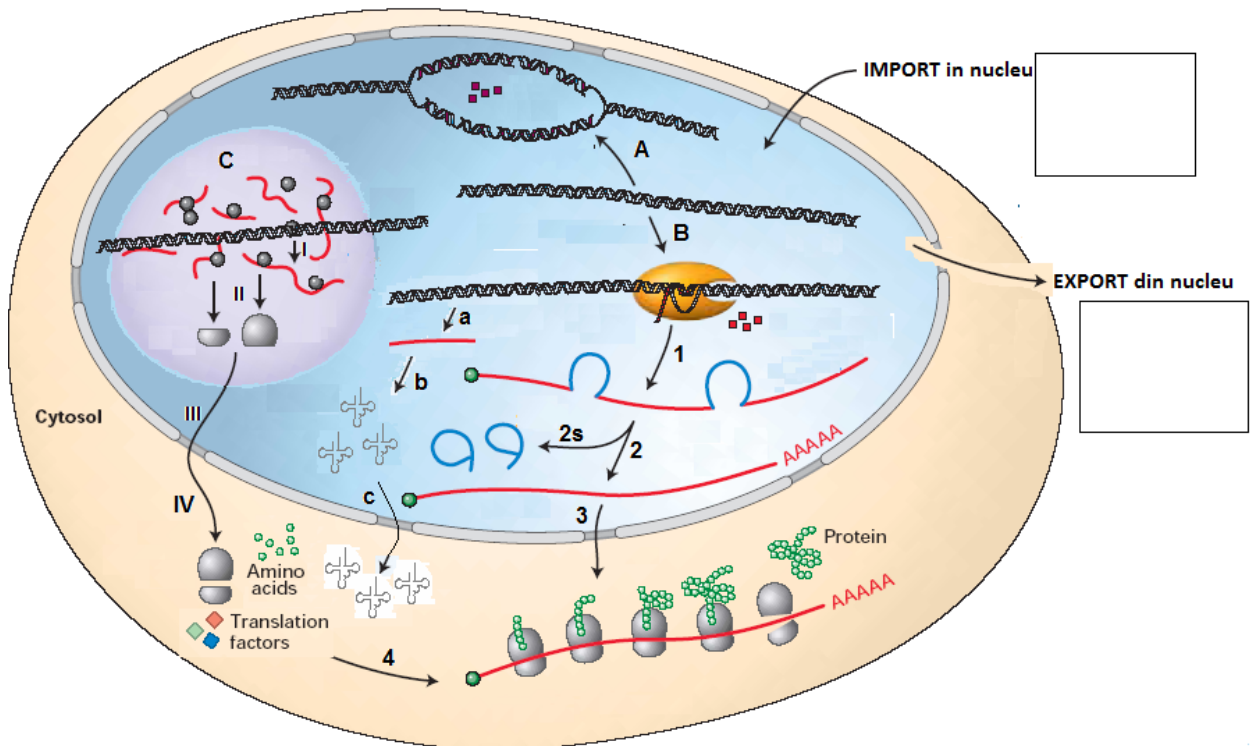
	Celula nervoasă	Celula epitelială	Ameloblastul	Odontoblastul	Cementoblastul
ADN-nuclear					
- gene structurale					
- gene ARNr					
- gene ARNt					
ARNhn					
ARNm					
ARNr					
ARNt					
Histone					
Nonhistone – factori de transcripție					
Nonhistone – factori p/u replicarea ADN					
Nonhistone – factori pentru procesarea ARN					
Nonhistone – factori p/u reparația ADN					
Nucleoporine					
Karioferine - exportine					
Karioferine - importine					
Lamine					

Finalități:

1. Înțelegerea modului de organizare a materialului genetic în nucleul celulei în interfază;
2. Să știți nivelele de compactizare a materialului genetic nuclear și rolul biologic al compactizării.
3. Înțelegerea rolului heterocromatinizării în expresia genelor și activitatea celulelor.
4. Cunoașterea structurii cromozomului și semnificație diferitor segmente cromozomiale.
5. Înțelegerea structurii și funcției nucleolului.

Teste de autoevaluare:

1. Analizați schema și răspundeți la următoarele întrebări:



➤ Care sunt procesele caracteristice nucleului (indicați denumirea și cifra corespunzătoare din imagine)?

A	1	a	I
B	2	b	II
C	3	c	III
			IV

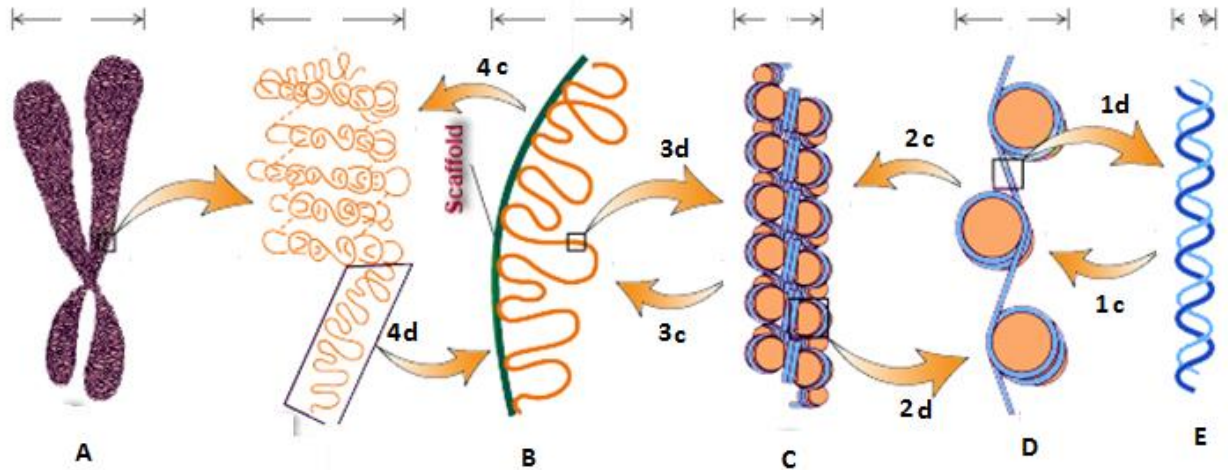
➤ Care sunt componente moleculare ale nucleului?

➤ Ce importă nucleul?

➤ Ce exportă nucleul?

2. Caracterizați nivelele de compactizare a MG nuclear:

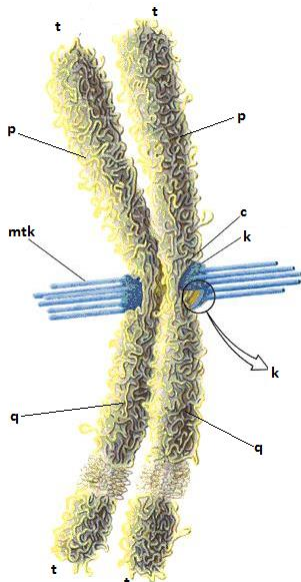
	Nivel	Grad	Grosime	Componente moleculare
A				
B				
C				
D				
E				



Explicați condițiile necesare condensării (c) sau decondensării (d) la fiecare etapă:

- 1c –
- 1d –
- 2c –
- 2d –
- 3c –
- 3d –
- 4c –
- 4d –

3. Descifrați legenda figurii: și evaluate organizarea moleculară.



- | <i>denumire</i> | <i>componente moleculare</i> |
|-----------------|------------------------------|
| t - | |
| p - | |
| c - | |
| k - | |
| mtk - | |
| q - | |

4. Clasificați proteinele nucleare după procesele la care participă: ADN-polimeraza, ADN-ligaza, ARN-polimeraza, H1, H2B, nucleolina, nucleoporina, karioferina, matrine, helicaza, topoisomeraza, endonucleaza, exonucleaza:

_____	_____	_____	_____	_____
_____	_____	_____	_____	_____
_____	_____	_____	_____	_____
_____	_____	_____	_____	_____
_____	_____	_____	_____	_____
_____	_____	_____	_____	_____

5. Clasificați secvențele ADN-ului nuclear după necesitatea transcripțională și forma de prezentare în nucleele diferitor tipuri de celule ale organismului uman: Gena Met-ARNt, Gena ARNr5S, Gena insulinei, Gena ARN-polimerazei, Gena Actinei, Gena ARNr18S, Gena Riboforinei, Gena Ser-ARNt, Gena Na/K-ATPazei.

în orice celulă	Active		Prezentare	
	numai în anumit tip de celulă		eucromatină	heterocromatină facultativă
_____	_____	_____	_____	_____
_____	_____	_____	_____	_____
_____	_____	_____	_____	_____
_____	_____	_____	_____	_____
_____	_____	_____	_____	_____
_____	_____	_____	_____	_____
_____	_____	_____	_____	_____

6. Repartizați histonele după elementele unde pot fi identificate: H1, H2A, H2B, H3, H4

Nucleozom	Solenoid	Bucle de cromatină	Cromozom metafazic
_____	_____	_____	_____
_____	_____	_____	_____
_____	_____	_____	_____
_____	_____	_____	_____
_____	_____	_____	_____

7. Caracteristica comparativă a centomerului vs. telomerului, indicați criteriile de asemănare și deosebire:

Centromer		Telomer
	Asemănări	
_____	_____	_____
_____	_____	_____
_____	_____	_____
_____	_____	_____
_____	_____	_____
_____	_____	_____
	Deosebiri	
_____	_____	_____
_____	_____	_____
_____	_____	_____
_____	_____	_____
_____	_____	_____

LUCRAREA PRACTICĂ Nr. 6

ORGANIZAREA MOLECULARĂ A GENELOR

Gena este unitatea elementară structural-funcțională a eredității și variabilității. Genele reprezintă o combinație specifică de nucleotide care codifică și reglează sinteza unei molecule de ARN sau a unui polipeptid. Principalele gene din genomul celulei sunt cele structurale - codificatoare de polipeptide, iar genele ce codifică ARNr și ARNt asigură formarea aparatului de translație a codului genetic în timpul biosintezei polipeptidului.

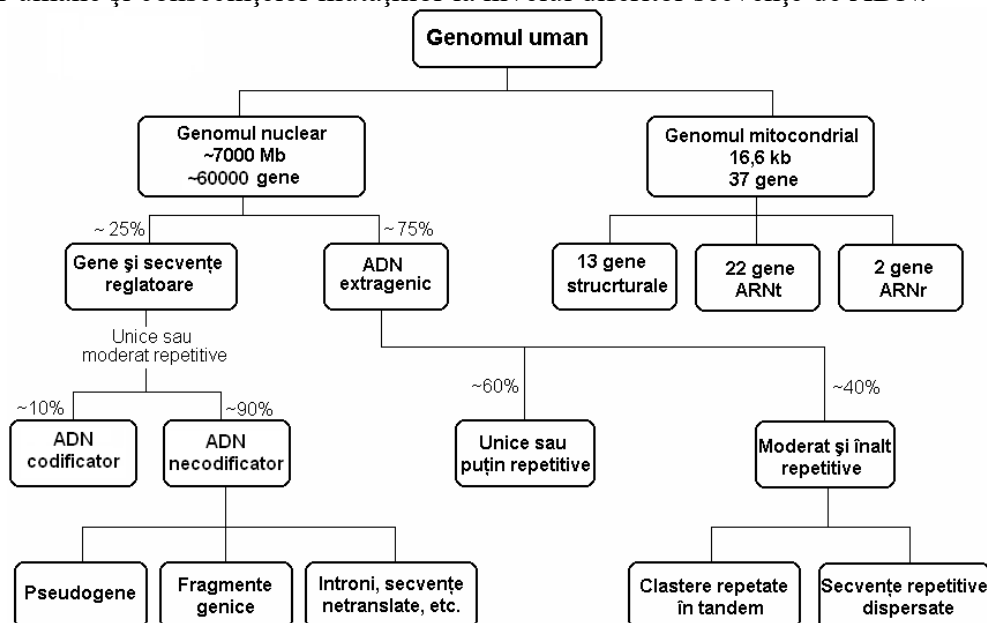
Genele sunt localizate de-a lungul moleculelor de ADN, pot fi unice sau pot avea mai multe copii repetate în tandem sau repartizate pe diferiți cromozomi. Granițele genelor sunt funcționale și sunt identificate doar de factorii proteici ce asigură inițierea și terminarea transcripției. Factorii proteici recunosc gena care trebuie transcrisă combinându-se specific cu situsuri reglatoare ale inițierii transcripției. Astfel, fiecare genă sau grup de gene – **unitate transcripțională** – conțin regiuni codificatoare și regiuni reglatoare. Regiunile reglatoare ale genei sunt reprezentate de:

- *promotor*, care asigură identificarea genei țintă și a situsului de inițiere a transcripției;
- *terminator*, care asigură finalizarea procesului de transcripție;
- *secvențele modulatorie* ale vitezei și ratei de transcripție, caracteristice genelor codificatoare de proteine, sunt *enhanceri* și *silenceri*.

Expresia genelor, calitatea și cantitatea produsului final – ARNm și proteina, ARNr sau ARNt - sunt determinate, în primul rând, de particularitățile transcripției genelor și varianta de procesare a ARN-transcript primar. În dependență de funcția majoră a genei se disting trei clase principale:

- gene codificatoare de ARNr 5,8S, 18S și 28S, care formează unități transcripționale comune transcrise de ARN-polimeraza I, fiind numite gene de clasa I;
- gene codificatoare de polipeptide (proteine), care au o structură mozaică exon/intron, formează unități transcripționale separate, monocistronice, transcrise de ARN-polimeraza II, fiind numite gene de clasa II;
- gene codificatoare de ARNt și ARNr 5S, ce formează unități transcripționale repetitive transcrise de ARN polimeraza III, fiind numite gene de clasa III.

Fiecare tip de ARN-polimerază își recunoaște, prin intermediul factorilor de transcripție, clasa de gene după particularitățile de organizare a promotorilor. Înțelegerea modului de organizare a celor trei clase de gene va permite înțelegerea mecanismelor diferite de expresie a genelor umane și consecințelor mutațiilor la nivelul diferitor secvențe de ADN.



Genomul uman conține circa 30 000 perechi de gene structurale, mutațiile cărora pot provoca numeroase stări patologice:

- sunt descrise peste 9000 de boli monogenice cu implicarea diferitelor țesuturi și organe;
- sunt cunoscute peste 100 de boli multifactoriale, condiționate de mutații în diferite gene care, în combinație cu factorii de mediu defavorabili, provoacă majoritatea patologiilor adultului;
- sunt cunoscute gene, mutațiile cărora determină proliferarea anormală a celulelor și apariția bolii canceroase.

Subiecte pentru discuții :

1. Organizarea generală, localizarea și funcția genelor.
2. Relația genă – ARN – proteină – caracter.
3. Secvențele codificatoare și reglatoare ale genelor.
4. Particularitățile organizării genelor structurale din genomul uman.
5. Structura mozaică a genelor și rolul biologic al acesteia.
6. Particularitățile genelor de clasa I și III.

1. Definiți noțiunile:

Genom

Cromozom

Genă

Cistron

Unitate transcripțională

Promotor

Boxă TATA

Exon

Intron

Expresie genică

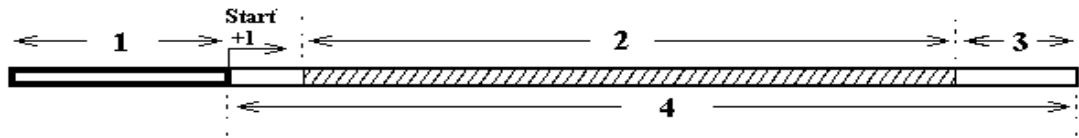
Genă structurală

Genă de clasa I

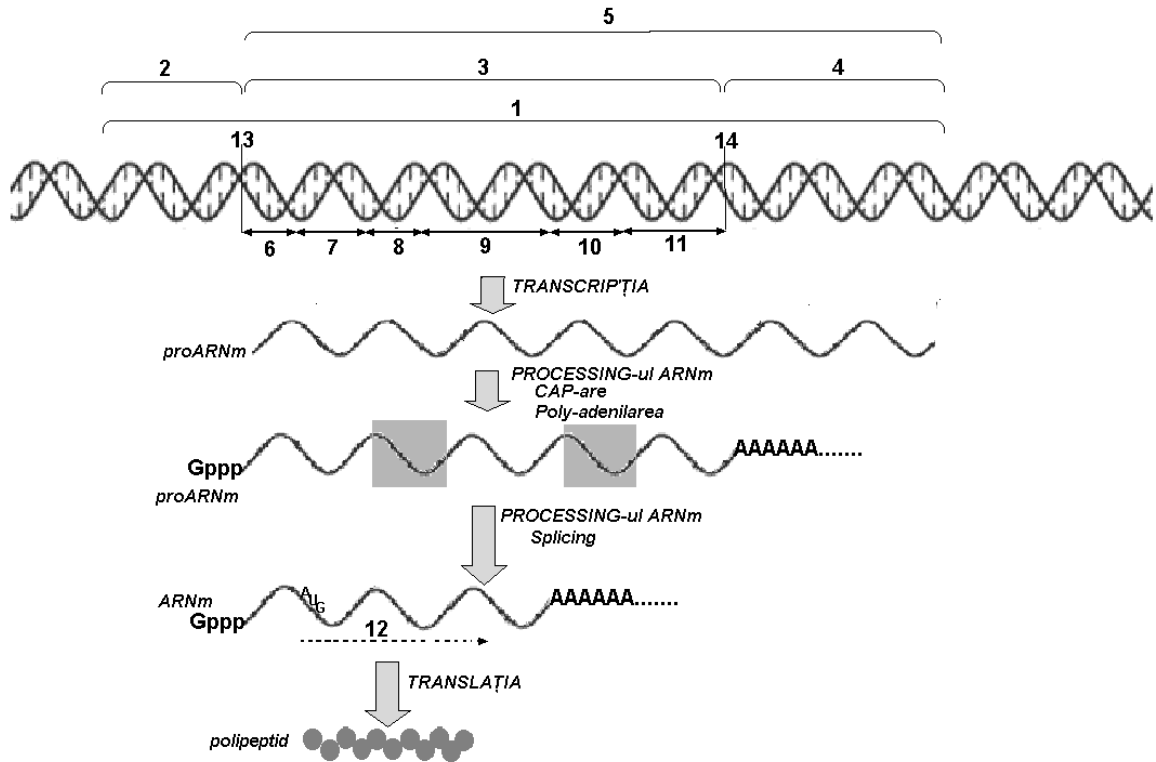
Genă de clasa II

Genă de clasa III

2. Completați legenda figurii și evidențiați regiunile reglatoare:



3. Completați legenda figurii și Completați tabelul: identificând funcția fiecărui element din schema de mai jos:



Nr	Secvențele genei	Funcția
1		
2		
3		
4		
5		
6		
7		
8		
9		
10		
11		
12		
13		
14		

4. Completați tabelul: „Particularitățile organizării diferitor gene”

	Gene clasa I	Gene clasa II	Gene clasa III
Funcția			
Structura unității de transcripție			
Prezența intronilor			
Particularitățile promotorului			
Numărul de copii în genom			
Activitate specifică de țesut			

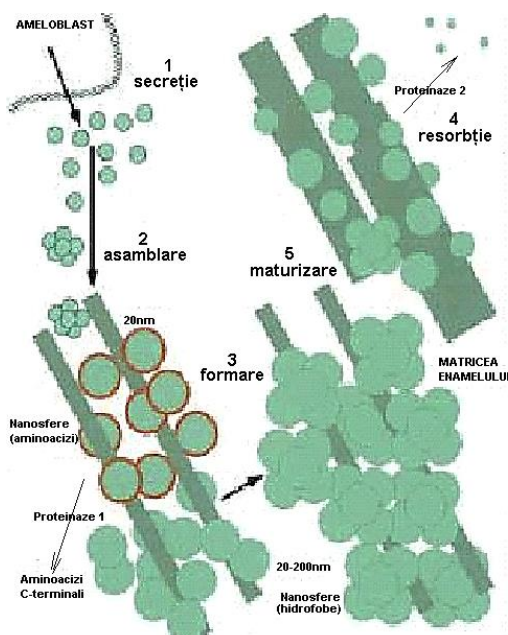
5. Completați tabelul: „Caracteristica comparativă ale genomului uman nuclear și mitocondrial”

	Genom nuclear	Genom mitocondrial
Mărimea		
Nr. de molecule de ADN		
Nr. de gene ARNr		
Nr. de gene ARNt		
Nr. de gene structurale		
Nr. unităților transcripționale		
Secvențe necodificatoare		
Transpozoni		

6. Ameloblaștii sunt celulele responsabile de secreția și maturizarea smalțului dentar, cea mai dură componentă a dintelui. 97% din compoziția smalțului sunt substanțe minerale – baza durtății acestei structuri, 1% - proteine responsabile de formarea corectă și mineralizarea optimală a smalțului și 2% H₂O. Proteinele majore prezente în matricea extracelulară a ameloblaștilor sunt amelogenina, enamelina, tufelina. Circa 10.000 de gene orchestrează formarea smalțului dinților omului. Principalele gene ce controlează calitatea smalțului, exprimate în ameloblaști sunt:

- AMELX și AMELY, localizate pe crs. X și Y – codifică **amelogenina**;
- ENAM de pe crs. 4 - codifică pentru proteina **enamelina** importantă în determinarea creșterii în lungime a cristalelor de hidroxiapatită (extensie și reglarea dispunerii);
- MMP20 de pe crs. 11 - (matrix metalloproteinază 20) deține instrucțiuni pentru sinteza enzimei proteolitice **enamelizina**;
- DLX3 de pe crs. 17 – codifică factorul „*distal-less homeobox 3*”, important în modelarea craniofacială și morfogeneza dinților;
- KLK4 de pe crs. 19 - codifică pentru proteina kallikreina-4, numită serin-proteinază a matricei smalțului activată de MMP20.
- CNM4 de pe crs. 2 – codifică ciclina M4 importantă în transportul de metale și biomineralizare ;
- Etc.

Amelogenina cea mai abundentă proteină în producerea smalțului dentar și este produsul genelor AMELX și AMELY. Deși rolul exact în formarea smalțului încă nu e înțeles pe deplin, se consideră că **amelogenina** reglează forma și dimensiunea cristalelor de mineralizare ale smalțului.



- (1) Amelogenina este sintetizată și secretată de ameloblaști.
- (2) În spațiul extracelular moleculele amelogeninei se asamblează în nanosfere cu diametrul 20 nm, având o suprafață negativă.
- (3) Nanosferele interacționează electrostatic cu suprafața elongată a cristalelor smalțiare, emancipându-se ca spațiatori prevenind fuzionarea cristal-cristal. (3) Enzimele (Proteinazele 1- **enamelizina**) eventual digeră suprafața electrostatică a nanosferelor, făcându-le hidrofobice care apoi asamblează și stabilizează cristalele în creștere.
- (4) Altă enzimă (Proteinaza 2 – **kallikrina 4**) degradează nanosferele hidrofobice, generând fragmente care sunt reabsorbite de ameloblaști.

7. Completați tabelul: „Funcțiile genelor și consecințele mutațiilor la nivel de organism”

Gene	Funcțiile genelor			Consecințele mutațiilor la nivel de organism
	la nivel molecular	la nivel celular	la nivel de organism	
Gena AMELX				
Gena ARN18S				
Gena histonei H2A				
Gena ENAM				
Gena KLK4				
Gena Val-ARNt				
Gena MMP20				
Gena ARN5S				
Gena DLX3				
Gena CNNM4				
Gena histonei H1				
Gena ARN28S				

Finalități:

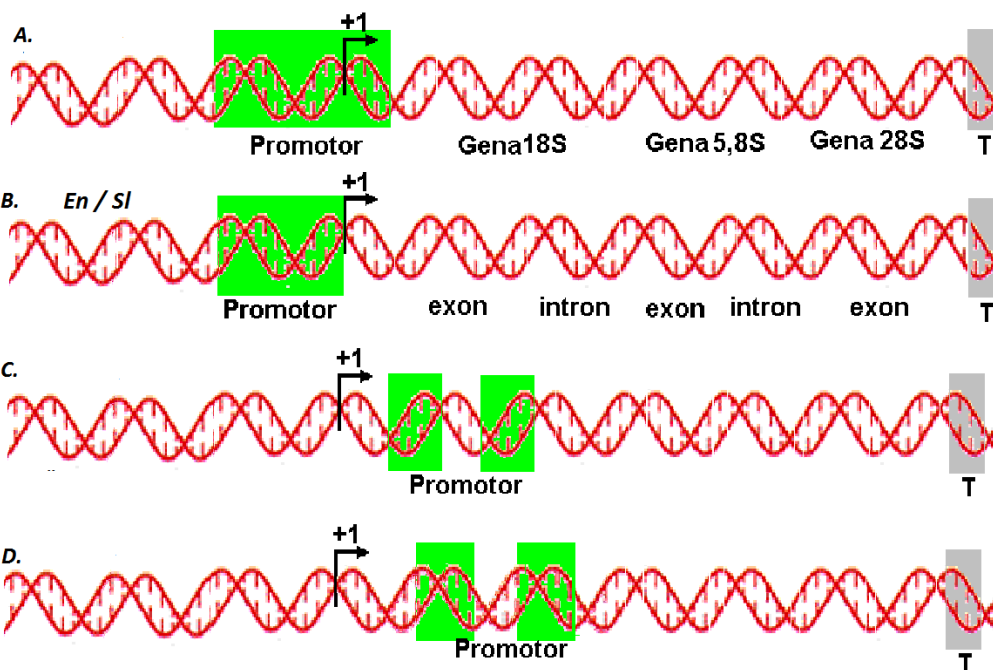
1. Înțelegerea rolului genelor în formarea caracterelor umane și relației ADN – ARN – proteină – caracter.
2. Cunoașterea modului de organizare a genelor structurale – codificatoare de proteine.
3. Să știți rolul biologic și practic al secvențelor codificatoare și reglatoare ale genelor.
4. Înțelegerea particularităților de organizare a genelor nucleare, mitocondriale și ale procariotelor.
5. Cunoașterea semnificației medicale a modificărilor calitative sau cantitative ale genelor umane.

Formulați 5 concluzii referitor la rolul biologic al structurii mozaice a genelor structurale.

1. _____
2. _____
3. _____
4. _____
5. _____

Test pentru autoevaluare:

1. Definiți segmentele din figurile A, B, C și D:



A: Definiție –

Rol biologic –

Particularități de organizare -

B: Definiție –

Rol biologic –

Particularități de organizare -

C: Definiție –

Rol biologic –

Particularități de organizare –

D: Definiție –

Rol biologic –

Particularități de organizare –

2. Analizați șirul și identificați noțiunea ce nu se potrivește lanțului logic:
Genă de clasa II, regiuni codante, regiuni necodante, SIT +1, secvența lider, promotor parțial transcris, terminator.
Motivați excluderea.

3. Analizați șirul și identificați noțiunea ce nu se potrivește lanțului logic:
 Regiuni codante, regiuni necodante, SIT +1, promotor parțial transcris, enhancer, terminator.
 Motivați excluderea.

4. Repartizați secvențele de ADN conform categoriilor propuse mai jos:
 Gena clatrinei, gena catalazei, gena Met-ARNt, gena ARNr 5S, gena ARNr18S, Gena ADN-polimerazei, gena ARN polimerazei III, gena riboforinei, gena alfa-globinei, gena Val-ARNt, Gena ARNr 5,8S, gena Arg-ARNt.

<u>Gene de clasa I</u>	<u>Gene de clasa II</u>	<u>Gene de clasa III</u>
_____	_____	_____
_____	_____	_____
_____	_____	_____
_____	_____	_____
_____	_____	_____
_____	_____	_____

5. Desenați schematic gena AMELX, indicați secvențele reglatoare, modulatorie și codante/necodante.



6. Selectați elementele caracteristice genelor de mai jos:
 Enhancer, Silancer, Promotor netranscris, Promotor transcris, Promotor partial transcris, SIT+1, secvența lider, secvențe codante, secvențe necodante, terminator, situs Poly(A).

<u>Gena spectrinei</u>	<u>Gena Met-ARNt</u>	<u>Gena ARNr 28S</u>
_____	_____	_____
_____	_____	_____
_____	_____	_____
_____	_____	_____
_____	_____	_____
_____	_____	_____
_____	_____	_____
_____	_____	_____

7. Caracteristica comparativă a genelor *house keeping* vs. gene țesut specifice, indicați criteriile de asemănare și deosebire:

Gene *house keeping*

Gene țesut specifice

Asemănări

Deosebiri

LUCRAREA PRACTICĂ Nr. 7

TRANSCRIPTIA INFORMAȚIEI GENETICE ȘI *PROCESSING*-UL ARN

Genele reprezintă secvențe polinucleotidice ale moleculei de ADN ce codifică sinteza diferitor molecule de ARN și proteine. Sinteza moleculelor codificate este asigurată de procesele legate de expresia genică:

- transcripția secvențelor specifice de ADN cu sinteza complementară a unor molecule de ARN-precursor;
- *processing*-ul moleculelor de ARN și transferul lor în citoplasmă sub formă de precursori ribosomali, molecule de ARNt și molecule de ARNm;
- translația informației genetice codificate de moleculele de ARNm și biosinteza polipeptidelor, cu participarea moleculelor de ARNt în calitate de translațori ai codului genetic și ribosomilor – sediu pentru translație și asamblare a lanțurilor polipeptidice. Polipeptidul sintetizat este supus unor modificări structurale și/sau conformaționale determinând formarea unor proteine biologice active.

Genele pentru ARNr și ARNt sunt active în toate celulele, iar gradul de activitate este determinat de activitatea proteosintetică a celulei / țesutului. Genele structurale, codificatoare de proteine, pot fi active în toate celulele sau pot avea activitate specifică de țesut, pot fi active la ambele sexe sau pot avea specificitate de sex, pot fi active toată viața sau sunt dependente de o anumită perioadă ontogenetică. Astfel, celulele posedă mecanisme complexe de reglare a activității genelor. Există complexe proteice – factori de transcripție specifici ce interacționează cu un anumit promotor activând ARN-polimeraza II și factorii de transcripție generali și, ca răspuns, inițierea transcripției unei anumite gene în funcție de tip celular sau moment ontogenetic.

Cunoaștem că genele structurale conțin secvențe codificatoare – exoni și secvențe necodificatoare – introni, care sunt transcrise și se regăsesc în molecula de ARNm-precursor. În timpul maturizării, ARNm-precursor este supus unei serii de modificări:

- selectarea, înlăturarea intronilor și unirea exonilor – *splicing*-ul, ca rezultat se formează molecula de ARNm ce conține informația despre sinteza unui anumit polipeptid; variantele de *splicing* pot fi diferite și, astfel, o genă prin *splicing* alternativ poate codifica sinteza diferitor variante polipeptidice cu funcții diferite într-un sistem biologic;
- procesarea capetelor ARNm pentru prevenirea acțiunii exonucleazelor și recunoașterii ARNm de către factorii de translație ce asigură interacțiunea cu ribosomii, inițierea procesului de translație.

Subiecte pentru discuție :

1. Etapele expresiei informației genetice în celula procariotă.
2. Etapele expresiei informației genetice în celula eucariotă.
3. Principiile transcripției ADN și sintezei ARN.
4. Particularitățile transcripției genelor structurale la eucariote.
5. Caracteristica aparatului de transcripție.
6. *Processing*-ul ARNm și tipurile de *splicing*.
7. Rolul biologic al *splicing*-ului alternativ.
8. Particularitățile expresiei genelor de clasa I și III.

1. Definiți noțiunile :

Genă structurală

Expresie genică

Transcripția IG

Translația IG

Factor de transcripție general

Factor de transcripție special

Processing-ul ARN

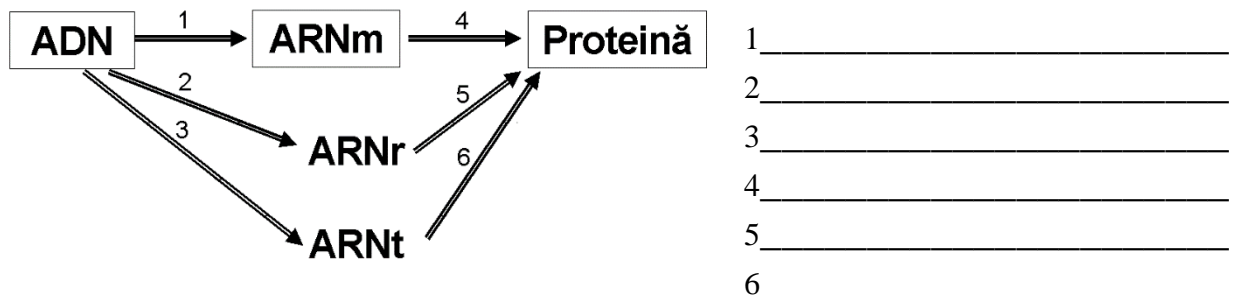
Splicing

Splicing alternativ

ARN-precursor

ARNm

2. Analizați schema, completați legenda și găsiți legătura dintre principalele macromolecule ale aparatului de realizare a informației genetice, completând tabelul.



	Biogeneza	Particularitățile structurii	Rol în realizarea informației genetice
ADN			
ARNm			
ARNr			
ARNt			
Proteina			

3. Analizați schema expresiei informației genetice și introduceți concluziile în tabelul de mai jos:

5'-ATTGCAAGATTACCATGA-3' ADN
 3'-TAACGTTCTAATGGTACT-5'

↓ Transcripție

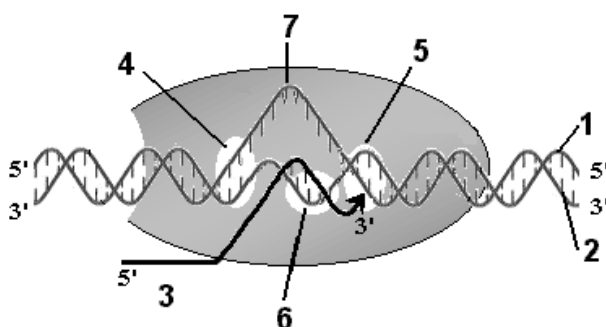
5'-AUUGCAAGAUUACCAUGA-3' ARNm

↓ Translație

Ile - Ala - Arg - Leu - Pro polipeptid

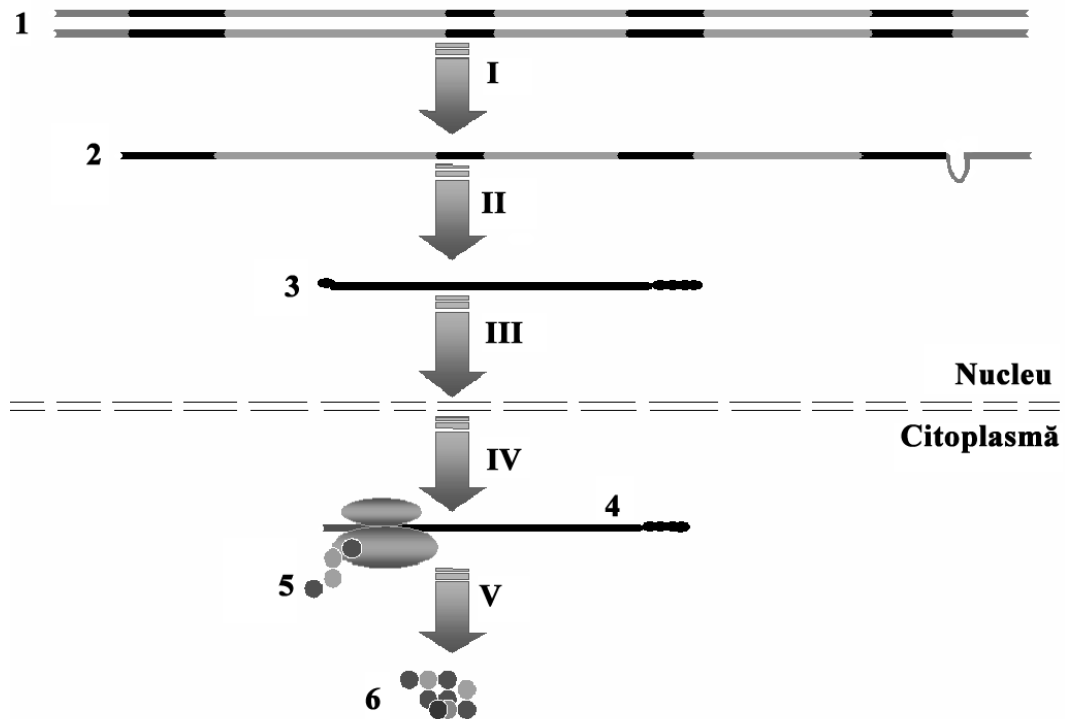
Elemente comparate	Caracteristică comparativă
ADN vs. ARNm	
ADN-catena codogenă vs. catena anticodogenă	
ADN - catena codogenă vs. ARNm	
ADN-catena anticodogenă vs. ARNm	
ARNm vs. proteina	
ADN-catena codogenă, ARNm vs. proteină	
Matrița pentru ARN vs. matrița pentru proteină	
Transcripție vs. translație	

4. Analizați figura de mai jos și asociați noțiunile cu cifrele corespunzătoare:



- A – situs de renaturare - ____
- B – situs de denaturare - ____
- C – catena codogenă - ____
- D – catena transcrisă - ____
- E – hibrid ADN-ARN - ____
- F – catena netranscrisă - ____
- G – molecula de ARN - ____

5. Completați legenda figurii „_____”



6. De completat tabelul: "Etapele expresiei genelor structurale la eucariote"

Etapa		Componentele necesare	Produsul final	Locul desfășurării
Transcripția	Inițiere			
	Elongare			
	Terminare			
Processing-ul ARNm	Cap-area			
	Poliadenilarea			
	<i>Splicing</i> -ul			
Transferul ARNm în citoplasmă				
Translația				
Conformația				

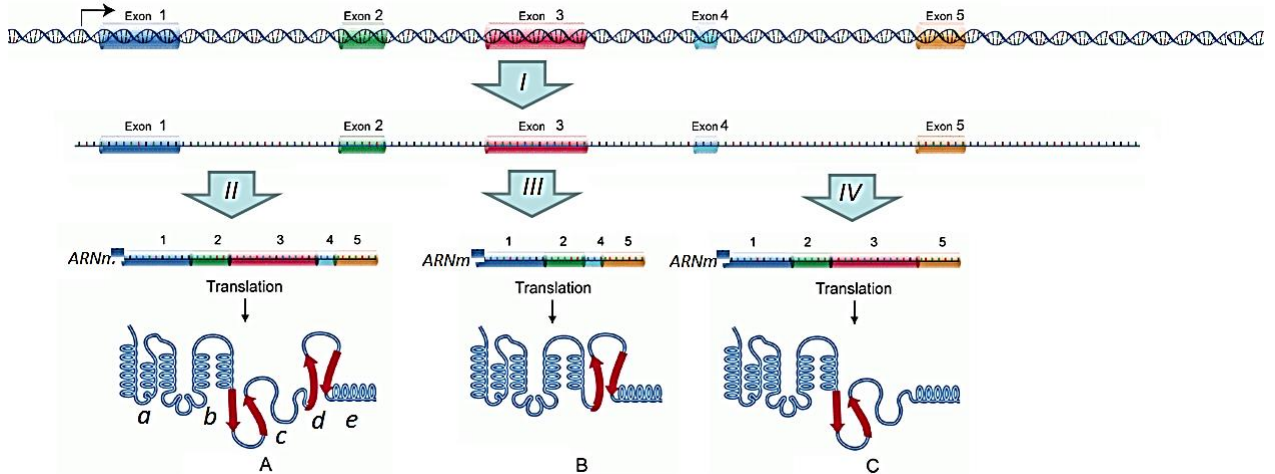
7. Caracteristica aparatului de transcripție a genelor structurale la eucariote:

Componente	Funcție în timpul transcripției
Promotor	
Situs (+1)	
Exon	
Intron	
Terminator	
Catena codogenă	
Catena anticodogenă	
ARN-polimeraza II	
ATP, GTP, CTP, UTP	
TFII A,B,D, F, H....	
TAFs	

8. Caracteristica aparatului de procesare a ARNm la eucariote:

Componente	Funcție în timpul <i>processing</i> -ului
ARNm-precursor	
ARNm	
Exon	
Intron	
GTP	
Guanilat-transferaza	
Ribonucleaza	
Poli(A)-sintetaza	
U1-U6	
U1	
U2	
U5	

9. Analizați schema și descifrați legenda:



	Denumire	Rol biologic
I		
II		
III		
IV		
A		
B		
C		
a		
b		
c		
d		
e		

Finalități:

1. Înțelegerea rolului transcripției și prelucrării posttranscripționale a ARN-ului în realizarea informației genetice.
2. Cunoașterea particularităților expresiei genelor structurale – codificatoare de proteine;
3. Să știți rolul biologic și practic *splicing*-ului alternativ.
4. Înțelegerea particularităților de expresie a genelor nucleare, mitocondriale și ale procariotelor.
5. Înțelegerea consecințelor defectelor de expresie a genelor umane în geneza bolilor umane.

Formulați 5 întrebări ce se referă la particularitățile expresiei genelor structurale eucariote.

1. _____
2. _____
3. _____
4. _____
5. _____

Test pentru autoevaluare

1. Asociați procesele cu responsabilii de proces:
- | | |
|---|-----------------------------|
| 1) Transcripția genei | A. ARN-polimeraza II |
| 2) CAP-are ARNm | B. Aminoacil-ARNt sintetaza |
| 3) Splicing-ul ARNm | C. G-transferaza |
| 4) Poliadenilare ARNm | D. PoliA-polimeraza |
| 5) Exportul ARNm din nucleu în citoplasmă | E. TFIIA |
| 6) Translația ARNm | F. TBP |
| 7) Conformația proteinei | G. RNPU1-U6 |
| | H. Karioferine |
| | I. Chaperone |
| | J. RNP40S |
| | K. RNP60S |
| | L. ARNt |
2. Alegeți secvențele reglatoare ale transcripției:
- a) Secvența lider; b) *enhancer*-ul; c) promotorul; d) *silencer*-ul; e) terminatorul.
3. ARN-polimeraza II se caracterizează prin:
- a) citește catena anticodogenă a ADN-ului în direcția 3'–5'; b) citește catena codogenă a ADN-ului în direcția 5'–3'; c) polimerizează nucleotidele în direcția 5'–3'; d) polimerizează nucleotidele în direcția 3'–5'; e) polimerizează cu o viteză de 30 nucleotide pe secundă.
4. Aparatul de transcripție include:
- a) dNTP; b) NTP; c) catena de ADN matriță 5'–3'; d) helicaza; e) ARN-polimeraza.
5. ARN precursor:
- a) este copia complementară catenei codogene a ADN; b) este copia identică a catenei codogene a ADN; c) este copia complementară a catenei anticodogene a ADN; d) reprezintă o moleculă monocatenară; e) este polimerizat în direcția 5'–3'.
6. *Processing*-ul ARNm include:
- a) excizia intronilor; b) "CAP"-area capătului 5'; c) "CAP"-area capătului 3'; d) poliadenilarea capătului 3'; e) poliadenilarea capătului 5'.
7. Secvențele modulatorie ale transcripției sunt:
- a) situsul ORI; b) secvența lider; c) *enhancer*-ul; d) primerul; e) *silencer*-ul.
8. *Splicing*-ul alternativ asigură:
- a) poliadenilarea capătului 3' al ARNm; b) înlăturarea selectivă a exonilor; c) înlăturarea selectivă a intronilor; d) formarea diverselor variante de ARNm; e) explica numărul redus de gene la *om*.
9. Activarea genelor pentru transcripție la eucariote implică:
- a) activarea *enhancer*-ului; b) metilarea promotorului; c) acetilarea histonelor; d) despiralizarea fragmentului ADN ce conține gena; e) acțiunea factorilor proteici de transcripție.
10. Analizați șirul și excludeți noțiunea ce nu corespunde lanțului logic:
ATP, GTP, UTP, RNPU1, RNPU5, G-transferaza, PoliA-polimeraza, pre-ARNm.
Argumentați excluderea.
11. Analizați șirul și excludeți noțiunea ce nu corespunde lanțului logic:
Transcripție, identificarea secvențelor necodante, înlăturarea secvențelor necodante, CAP-aria, asamblarea 40S, asamblarea 60S, exportul subunităților ribozomale.
Argumentați excluderea.

12. Se dă un fragment din catena codogenă a ADN

- arătați catena anticodogenă;
- sintetizați pre-ARNm;
- procesați ARNm
- translați ARNm

+1

5'..ATGCCATGCACGGGGTTGACCGTTGAGACGATTTGAGCACAT...3'

13. Mai jos este prezentată o secvență poliribonucleotidică dintr-un pre-ARNm. Identificați și delimitați exonii și intronii.

G5'ppp5'ACGUAACAAUGCAAUCGUCCACUUGAGCAGCUGAUAACA.....

14. Repartizați elementele prezentate conform proceselor la care participă:

ADN, ATP, dATP, GTP, ARN, ARN polimeraza I, ARN-polimeraza II, ARN-polimeraza III, TFIIA, TFIIB, TBP, G-transferaza, UBP, SL1, ARNr 45S.

Transcripția genelor de clasa I	Transcripția genelor de clasa II	Transcripția genelor de clasa III
_____	_____	_____
_____	_____	_____
_____	_____	_____
_____	_____	_____
_____	_____	_____
_____	_____	_____
_____	_____	_____

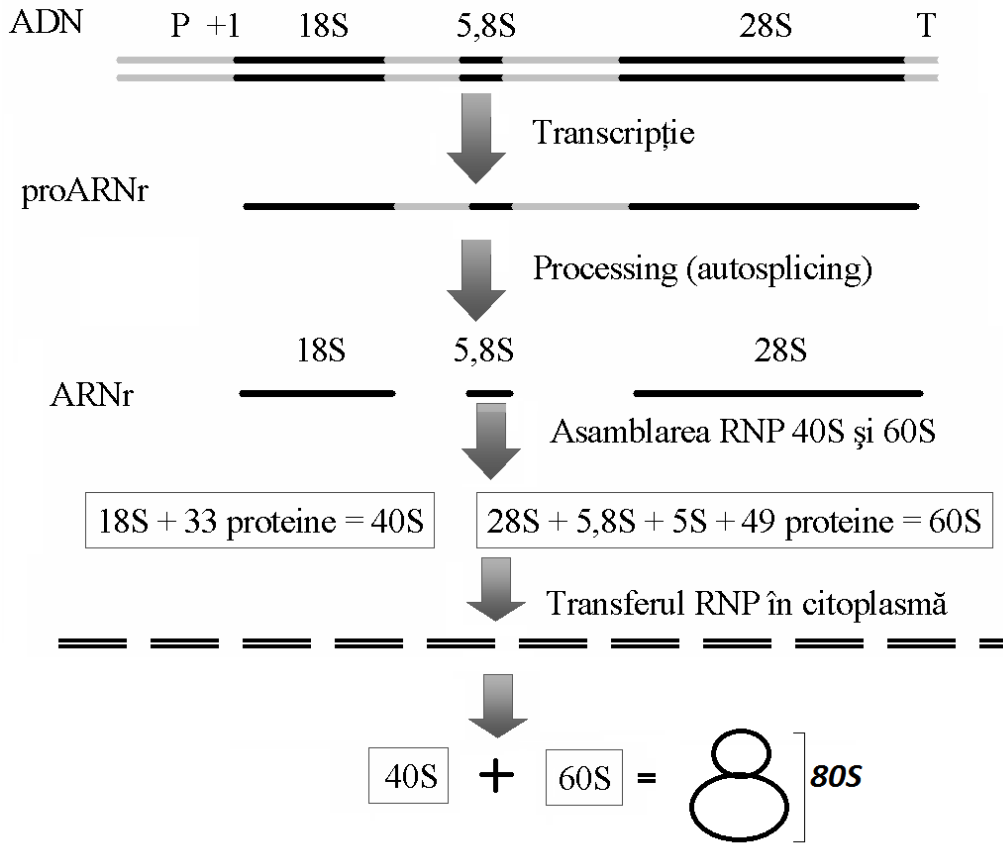
15. Caracteristica comparativă a splicing-ului constitutiv vs splicing alternativ, indicați criteriile de asemănare și deosebire:

Splicing constitutiv	Asemănări	Splicing alternativ

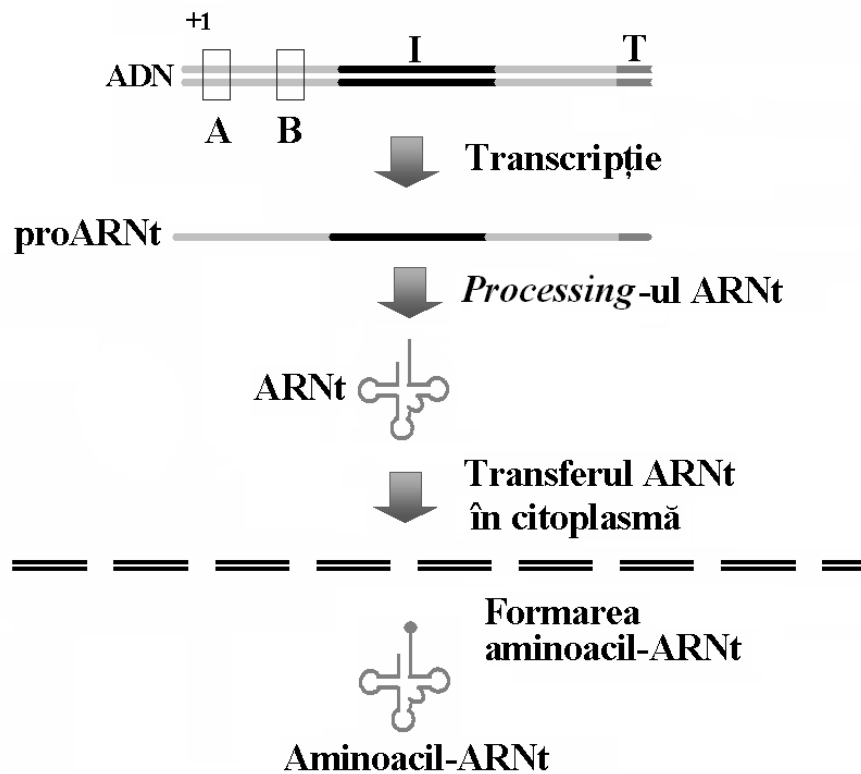
	Deosebiri	
_____	_____	_____
_____	_____	_____
_____	_____	_____
_____	_____	_____
_____	_____	_____

Anexe:

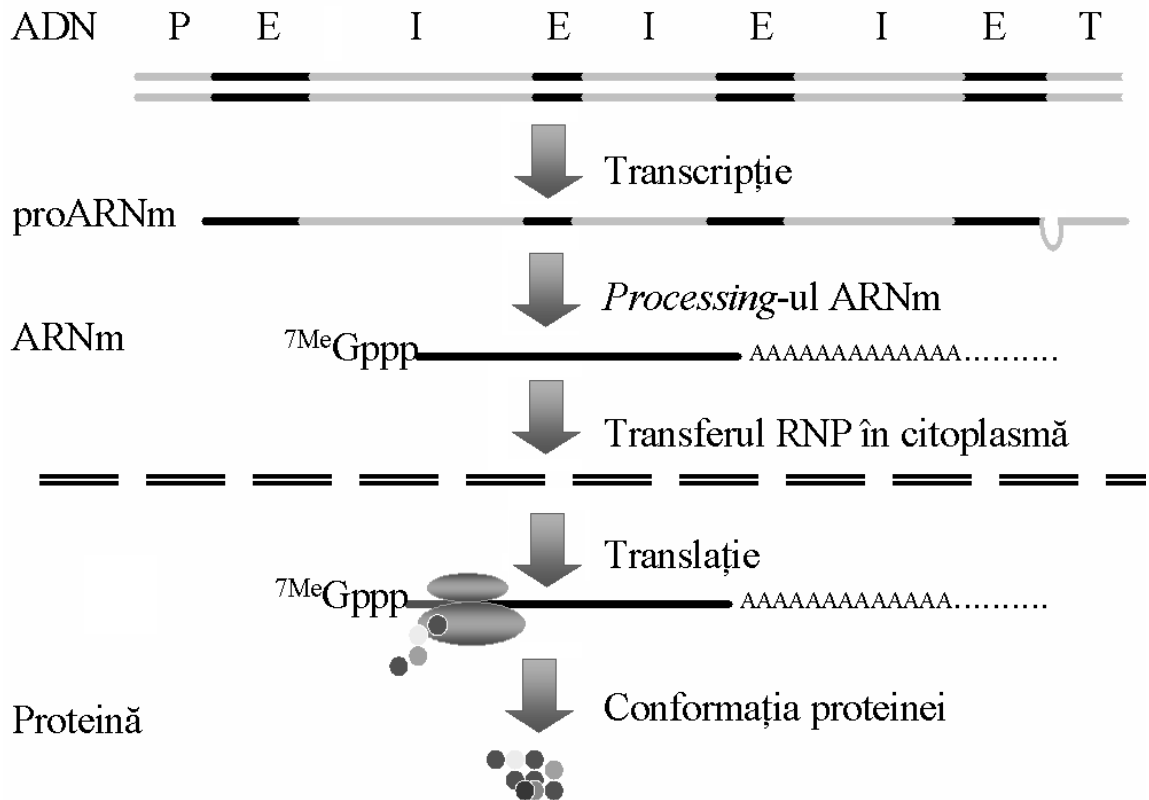
Etapele expresiei genelor de clasa I



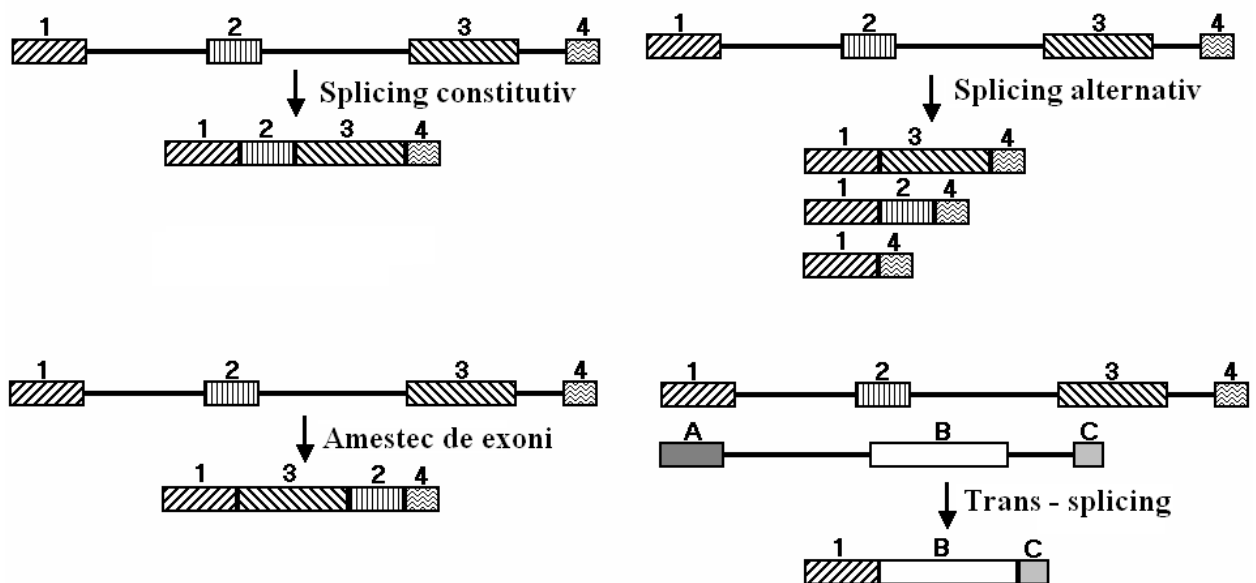
Etapele expresiei genelor de clasa III



Etapele expresiei genelor de clasa II



Tipuri de splicing al ARNm



LUCRAREA PRACTICĂ Nr. 8

TRANSLAȚIA

Moleculele de ADN sunt molecule informaționale mari, în lungul cărora secvențele codificatoare alternează cu cele necodificate. Doar circa 10% din informația deținută în nucleele celulelor umane este realizată sub formă de proteine, iar activitatea genelor este dependentă de țesut, de perioada ontogenetică a celulei sau organismului și de factorii de mediu. În consecință, celulele noastre posedă mecanisme de reglare, care asigură selecția genei care va fi expresată; transcripția ei; selecția și realizarea modelului de *processing* al ARNm specific celulei date; transferul ARNm din nucleu în citoplasmă și interacțiunea lui cu factorii reglatori ai translației; translația mesajului codificat în ARNm în succesiunea de aminoacizi și formarea unui polipeptid specific. Polipeptidul sintetizat pe baza expresiei unei gene este supus unor anumite modificări structurale și conformaționale pentru a deveni o proteină funcțională / componentă a proteinei funcționale.

	T(U)	C	A	G	
T (U)	(Phe)	(Ser)	(Tyr)	(Cys)	T(U)
	(Phe)	(Ser)	(Tyr)	(Cys)	C
	(Leu)	(Ser)	STOP	STOP	A
	(Leu)	(Ser)	STOP	(Trp)	G
C	(Leu)	(Pro)	(His)	(Arg)	T(U)
	(Leu)	(Pro)	(His)	(Arg)	C
	(Leu)	(Pro)	(Gln)	(Arg)	A
	(Leu)	(Pro)	(Gln)	(Arg)	G
A	(Ile)	(Thr)	(Asn)	(Ser)	T(U)
	(Ile)	(Thr)	(Asn)	(Ser)	C
	(Ile)	(Thr)	(Lys)	(Arg)	A
	(Met)	(Thr)	(Lys)	(Arg)	G
G	(Val)	(Ala)	(Asp)	(Gly)	T(U)
	(Val)	(Ala)	(Asp)	(Gly)	C
	(Val)	(Ala)	(Glu)	(Gly)	A
	(Val)	(Ala)	(Glu)	(Gly)	G

Translația este o etapă majoră a expresiei genelor, reprezintă un proces complicat de descifrare a secvenței polinucleotidice într-o succesiune de aminoacizi cu formarea lanțului polipeptidic. Corespondența dintre succesiunea nucleotidică din ARNm (copia ADN-ului) și ordinea aminoacizilor din polipeptid se numește cod genetic, care este universal pentru toate organismele vii.

Translația este realizată pe ribosomi de către moleculele de ARNt după principiul complementarității codonilor din ARNm cu anticodonii de pe ARNt. Astfel moleculele de ARNt sunt specifice atât codonilor din ARNm, cât și aminoacizilor pe care îi transportă. Translația codului genetic începe cu codonul AUG, care corespunde *Metioninei*, și se termină când intervine unul

din *codonii stop* – UAA, UAG sau UGA. Aparatul de translație include numeroși factori proteici și non-proteici care asigură desfășurarea corectă a procesului, reglează inițierea, elongarea și terminarea translației, controlează rata translației, stabilitatea ARNm, asigură alegerea căii *foldind*-ului proteinei sintetizate (conformația, adăugarea secvențelor-semnal, etc.).

Subiecte pentru discuție :

1. Etapele expresiei informației genetice în celula eucariotă.
2. Principiile codului genetic.
3. Particularitățile translației la eucariote.
4. Caracteristica aparatului de translație.
5. Principiile și etapele principale ale translației.
6. Particularitățile translației la procariote.

1. Definiți noțiunile:

Transcripția IG

Translația IG

Cod genetic

Polipeptid

Aparat de translație

Situs A

Situs P

Secvența lider

Codon AUG

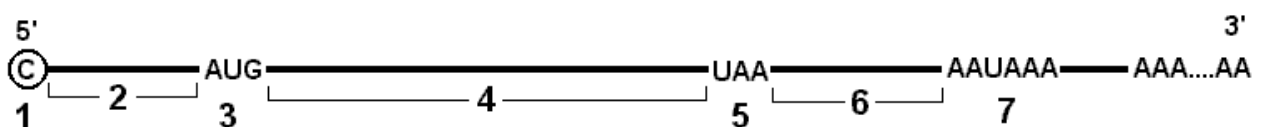
Codon STOP

Folding-ul proteinei

2. Completați tabelul: „Particularitățile codului genetic”:

	Caracteristică	Exemple
Universal		
Triplet		
Specific		
Degenerat		
Cvazidublet		
Colinear		
Nesuprapus		
Fără virgule		

3. Completați legenda figurii:



4. Analizați schema: „Etapile expresiei informației genetice” și completați tabelul

5'-ATTGCAAGATTACCATGA-3'
3'-TAACGTTCTAATGGTACT-5' **ADN**

↓ Transcripție

5'-AUUGCAAGAUUACCAUGA-3' **ARNm**

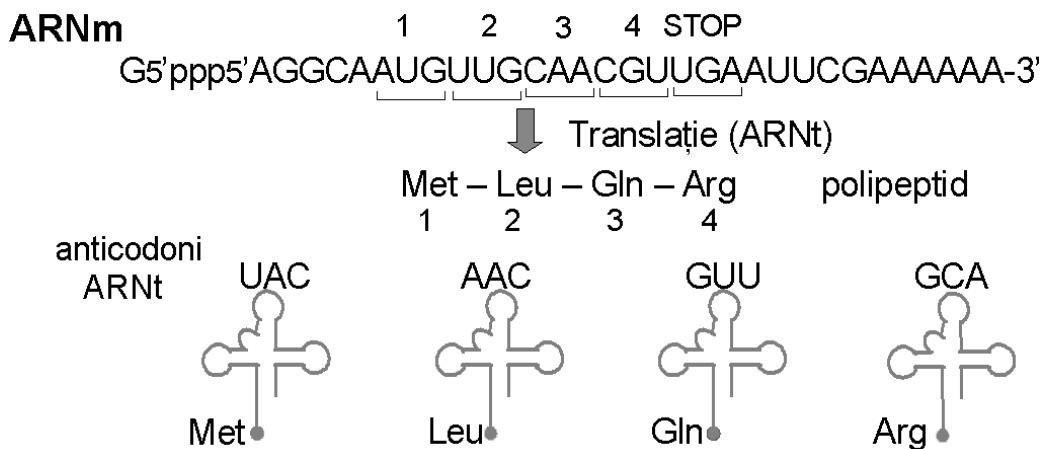
↓ Translație

Ile - Ala - Arg - Leu - Pro **polipeptid**

Tabelul „_____”

Caracteristici		Codul genetic	
		ADN (catena codogenă)	ARNm
Literele codului			
Cuvinte	Codon 1		
	Codon 2		
	Codon 3		
	Codon 4		
	Codon 5		
	Codon 6		
Fraza codificată			
Fraza decodificată			

5. Analizați schema și completați legenda figurii (A) și tabelul (B):

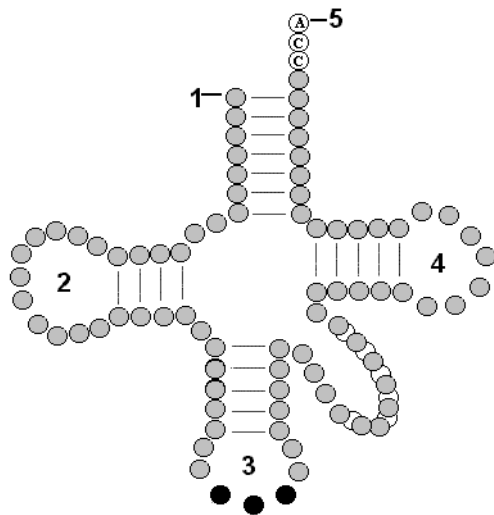


A. Figura „_____”

B. Tabelul: „Relația dintre principalele componente ale aparatului de translație”

Aminoacidul	Codoni ADN	Codoni ARNm	Anticodoni ARNt
Met			
Leu			
Gln			
Arg			

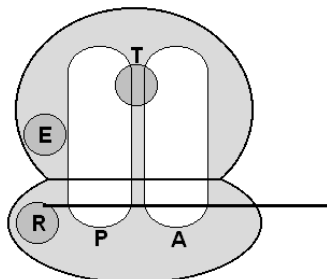
*Concluzii:



6. Asociați literele cu cifrele corespunzătoare din figura ce reprezintă ARNt:

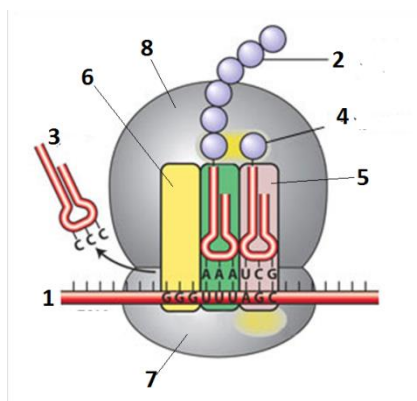
- A. Bucla dihidrouridinică;
- B. Bucla TΨC;
- C. Bucla anticodon;
- D. Brațul acceptor;
- E. Interacționează cu codonii din ARNm;
- F. Interacționează cu ribosomii;
- G. Interacționează cu peptidiltransferaza;
- H. Interacționează cu aminoacil-ARNt-sintetaza.

7. Asociați centrele active ale ribosomului cu denumirile lor:



- 1. Situsul de unire cu ARNm;
- 2. Peptidiltransferaza;
- 3. Situsul de eliberare a ARNt;
- 4. Situsul peptidil;
- 5. Situsul aminoacil.

8. Descifrați legenda figurii:



9. Completați tabelul: „Caracteristica aparatului de translație a celulei eucariote”

Componente	Nr. de variante posibile în celulă	Exemple	Funcții în timpul translației
ARNm			
Ribosomi			
ARNt			
Aminoacizi			
Aminoacil-ARNt-sintetaze			
ATP, GTP			
eIF			
eEF			
RF			

10. În loc de concluzii completați tabelul: “Caracteristica comparativă a transcripției și translației”

	Transcripție	Translație
Definiție		
Produs final		
Principii majore		
Matrița utilizată		
Direcția citirii matriței		
Direcția polimerizării		
Unități de polimerizare		
Polimeraza		
Secvența inițiatoare a procesului		
Secvența terminatoare a procesului		
Locul desfășurării la eucariote		
Rolul biologic		

Finalități:

1. Înțelegerea rolului translației în realizarea informației genetice.
2. Cunoașterea particularităților translației la eucariote;
3. Să știți rolul biologic și practic al prelucrării posttranslaționale a polipeptidelor sintetizate.
4. Înțelegerea particularităților de expresie ale genelor nucleare, mitocondriale și ale procariotelor.
5. Înțelegerea consecințelor patologice a defectelor ereditare sau dobândite a componentelor aparatului de realizare a informației genetice.

Formulați 5 întrebări ce se referă la codul genetic.

1. _____
2. _____
3. _____
4. _____
5. _____

LUCRAREA PRACTICĂ Nr. 9

CONTROLUL EXPRESIEI GENELOR

Organismul uman este un organism pluricelular cu peste 200 de tipuri de celule, care formează țesuturi și organe cu funcții diferite. Toate celulele somatice ale unui organism sunt genetic identice (au același genom, aceleași gene), provenind de la celula zigot prin mitoze succesive, dar au proteinom diferit și astfel proprietăți și funcții diferite. Fiecare celulă conține circa 7×10^9 p.n. în cele 46 molecule de ADN, circa 30 000 perechi de gene. În celulele organismului uman în diferite momente ontogenetice sunt active numai 10% din gene, 90% - sunt inactiv transcripțional și corespund heterocromatinei. Unele gene au expresie continuă în toate perioadele ontogenezei și în toate celulele organismului – genele pentru ARNr, ARNt și genele *house-keeping*. Alte gene au expresie temporală dependentă de țesut, de perioada ontogenetică a organismului, a ciclului celular, sau au activitate dependentă de factorii de mediu. Astfel, celula posedă mecanisme foarte complexe de reglare a expresiei genice.

Reglarea expresiei genice include mai multe procese:

- alegerea genei pentru transcripție;
- activarea secvenței de ADN pentru transcripție;
- controlul activității ARN-polimerazei II care va transcrie gena țintă;
- alegerea variantei de *splicing* a ARNm;
- controlul cantității și calității ARNm și proteinei sintetizate.

La eucariote genomul nuclear este enorm și este puternic compactizat (ADN + proteine histone, proteine nehistone), recunoașterea și activarea unei secvențe scurte de nucleotide (unei gene) este dificilă; există mecanisme de reglare multiple, la diferite nivele de expresie a genelor (pretranscripțional, transcripțional, *processing* ARNm, translație, etc.). Etapa principală de reglare a expresiei genei se realizează la nivelul inițierii transcripției, iar mecanismul principal este interacțiunea unor factori proteici (factori *trans*-reglatori) cu secvențele reglatoare ale acizilor nucleici (elemente *cis*-reglatorii). Factorii proteici reglatori sunt produșii unor gene situate la distanță, pe alte molecule de ADN.

Produsul final al expresiei genei este proteina biologic activă, care este rezultatul translației ARNm corespunzător și modificărilor posttranslaționale. Polipeptidul sintetizat, până a ajunge funcțional, suferă o serie de modificări:

- modificări conformaționale – pentru obținerea formei biologice active;
- asocierea polipeptidului sintetizat cu alte polipeptide pentru formarea proteinelor complexe;
- modificări calitative ale polipeptidului reversibile (acetilarea, fosforilarea) sau permanente (glicozilarea, adăugarea unor complexe lipidice, clivarea proteolitică);
- interacțiunea cu cofactori (Fe^{2+} , Zn^{2+} , etc.).

Înțelegerea mecanismelor de control al expresiei genelor, cunoașterea factorilor-cheie în reglare permit elaborarea unor strategii terapeutice de blocare a genelor cu expresie patologică sau de activare a genelor, expresia cărora este blocată, iar produsul cărora este necesar pentru supraviețuirea celulară.

Subiecte pentru discuție:

1. Etapele expresiei informației genetice în celula eucariotă.
2. Nivele de control al expresiei genelor la eucariote.
3. Factorii de reglare a transcripției genelor.
4. Clasificarea genelor umane.
5. Principiile de activare și inactivare a genelor umane.
6. Controlul calității proteinei sintetizate.

1. Definiți noțiunile :

Transcripția IG

Translația IG

Expresie genică

Control pozitiv al expresiei genelor

Control negativ al expresiei genelor

Cis-reglare

Trans-reglare

Conformație

Chaperoni

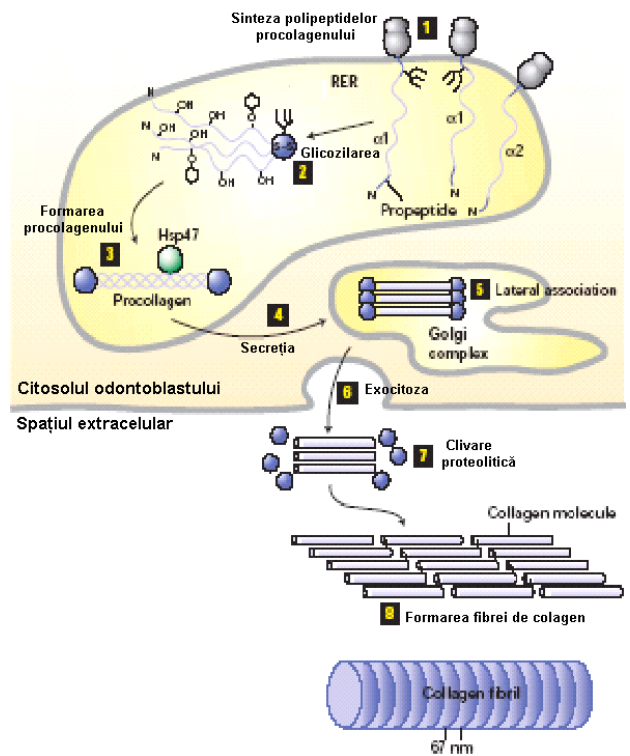
Rata transcripției

Proteinom

2. Completați tabelul: „Clasificarea genelor umane”

Criterii de clasificare	Categorii de gene	Exemple
După particularitățile transcripției		
După necesitatea lor spațială		
După necesitatea lor temporară		
După posibilitatea lor de a fi transcrise		
După rolul lor în sinteza proteinelor		
După reacția la factorii de mediu		
După tipul de proteină sintetizată		

3. Odontoblaștii sunt celulele responsabile de formarea și maturizarea dentinei. Dentina este compusă din săruri minerale (60%), substanțe organice –proteine, lipide, hidrați de carbon (20-26%) și H₂O (~10%). Proteinele majore ale dentinei sunt tropocolagenul, colagenul de tip I. **Colagenul** este o proteină complexă a matricei extracelulare și este format din trei lanțuri polipeptidice care pot fi de tip α 1 sau α 2 dispuse într-un triplu helix (etapele maturizării colagenului vezi în figură). Lanțurile de tip α 1 sunt codificate de gena COL1A1, iar cele de tip α 2 sunt codificate de gena COL1A2. **Gena COL1A1** este localizată pe crs. 17 - 17q21.3-q22.1, conține 17.54 kb, 51 de exoni, se expresează într-un ARNm de 5 927 b ce asigură sinteza unui polipeptid – **precolagen 1 α 1** de 1464 a.a. **Gena COL1A2** este localizată pe crs. 7 - 7q22.1, conține 36.67 kb, 52 de exoni, se expresează într-un ARNm de 5411 b ce asigură sinteza unui polipeptid – **precolagen 1 α 2** de 1366 a.a.



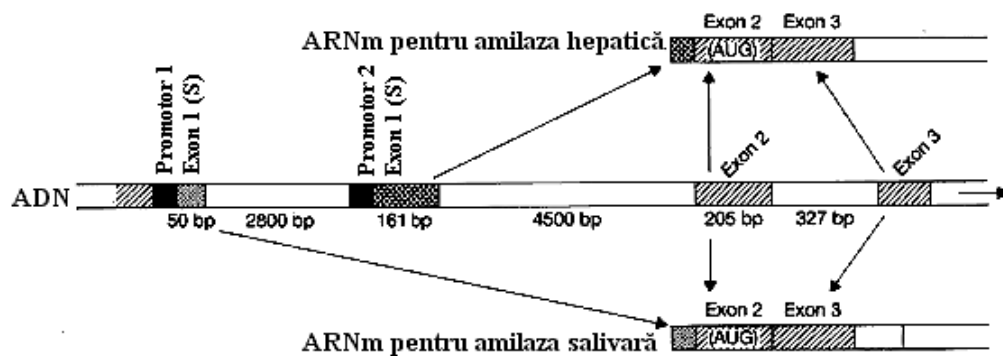
(a) Desenați schematic gena COL1A1 și indicați regiunile reglatoare și codificatoare. Enumerați și caracterizați etapele expresiei genei COL1A1.

(b) Desenați schematic gena COL1A2 și indicați regiunile reglatoare și codificatoare. Enumerați și caracterizați etapele expresiei genei COL1A2.

4. Completați tabelul: “Nivele de reglare a expresiei genice”

Nivel de reglare	Scopul	Mecanisme generale
Pretranscripțional		
Transcripțional		
Posttranscripțional		
Translațional		
Posttranslațional		

5. Analizați figura: „Expresia alternativă a genei pentru amilază”. Formulați 3 concluzii ce se referă la sinteza amilazei în ficat și glandele salivare

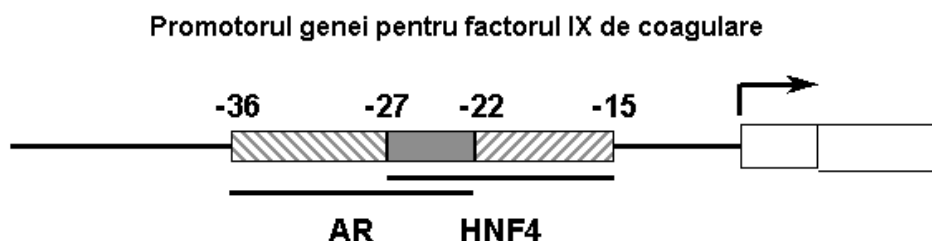


- 1.
- 2.
- 3.

6. Analizați schema prezentată și încercați să evaluați consecințele mutațiilor la nivelul promotorului genei pentru factorul IX de coagulare:

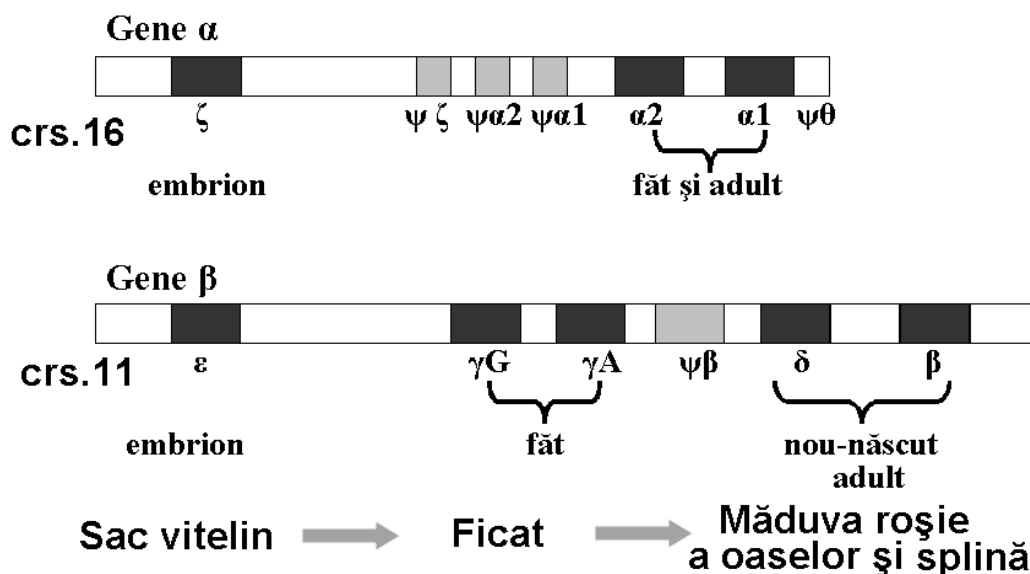
a) mutația în poziția -20

b) mutația în poziția -30



Genă este localizată pe cromozomul X
 Regiunea transcrisă conține 32 700 p.n., conține 8 exoni
 Transcripția genei este mediată de doi receptori majori pentru factorii de inițiere a transcripției AR și HNF4
 AR - androgen receptor pentru factorii de transcripție, activat la pubertate
 HNF4 - hepatocyt nuclear factor - 4, receptor pentru factorii de transcripție, activat în timpul dezvoltării prenatale
 Mutațiile genei pentru factorul IX determină hemofilia B.

7. Analizați figura “Expresia temporală și spațială a genelor globinelor” și completați tabelul:



Tipul hemoglobinei	Cum se formează	Organul hematopoetic
Hb embrionară		
Hb fetală		
Hb adultului		

8. Completați tabelul: “Reglarea epigenetică a activității genelor”

Mecanisme	Efect
Fosforilarea H1	
Defosforilarea H1	
Acetilarea histonelor	
Dezacetilarea histonelor	
Metilarea H3 (Lys4)	
Metilarea H3 (Lys9)	
Metilarea ADN	
Helixul B → helix Z	
Helixul B → helix A	
Helixul Z → helix B	

9. Completați tabelul: “Caracteristica generală a factorilor reglatori ai transcripției”

Grupe de factori	Caracteristica	Exemple
Factori <i>cis</i> – genici		
Factori <i>trans</i> – genici		
Factori <i>epigenici</i>		

Finalități:

1. Să cunoașteți etapele de realizare și nivelele de reglare a expresiei genelor umane.
2. Să înțelegeți de ce depinde calitatea și cantitatea proteinelor sintetizate în celulele noastre.
3. Să înțelegeți rolul diferitor categorii de factori în reglarea activității genelor.
4. Să știți principalele mecanisme de control pozitiv și negativ al expresiei genice.
5. Să puteți evalua rolul practic al cunoștințelor despre particularitățile expresiei genelor umane.

Formulați 5 concluzii ce se referă la expresia genelor umane codificatoare de proteine.

1. _____
2. _____
3. _____
4. _____
5. _____

Teme de referate:

- Reglarea expresiei genelor la procariote și rolul inhibitor al antibioticelor.
- Controlul expresiei genelor cu activitate specifică de țesut.
- Caracteristica genelor plastice din genomul uman.
- Expresia genelor umane în diferite perioade ontogenetice.
- Terapia genică.

LUCRAREA PRACTICĂ Nr. 10

REPLICAREA

Moleculele de ADN au structură unică în lumea vie, sunt formate din două catene complementare, antiparalele și dublu spiralate, care determină proprietăți unice acestor biopolimeri:

- replicarea, care asigură dublarea informației genetice și autoreproducerea organismelor vii;
- reparația, care asigură stabilitatea materialului genetic și păstrarea caracterelor de specie, familiale de-a lungul generațiilor.

Replicarea și reparația sunt procese moleculare foarte complexe, cu implicarea a numeroase enzime la diferite etape. Inițierea replicării este controlată de factorii mitogeni ce implică declanșarea unui lanț metabolic de semnalizare, grație căruia se asigură proliferarea celulelor organismului (în timpul creșterii prenatale și postnatale, reînnoirea sau regenerarea țesuturilor). ADN-polimeraza este principala enzimă a aparatului de replicare care asigură selectarea nucleotidelor, polimerizarea lor în catena nouă după principiul complementarității. Unele dintre ADN-polimeraze au capacitatea de lectură și corecție a erorilor de împerechere.

Moleculele de ADN cromozomial sunt lineare, și, datorită complexității procesului de sinteză a catenelor noi, devin cu fiecare rundă de replicare mai scurte și mai scurte – reprezentând un risc de pierdere a materialului genetic de la capetele cromozomilor. În mod normal, scurtarea cromozomilor este prevenită de modul de organizare a capetelor ADN-ului cromozomial – telomerii și unui mecanism particular de sinteză a lor, catalizat și controlat de telomerază – o enzimă cu activitate de reverstranscripție asociată cu un ARNsn.

Sub acțiunea diferitor mutageni se produc variate modificări ale structurii ADN, care pentru a fi corectate, necesită diferite sisteme de identificare, înlăturare a secvențelor defecte și înlocuirea acestora cu secvențe originale. Din aceste motive celulele noastre posedă mai multe sisteme de reparație:

- NER – reparația prin excizia nucleotidelor defecte;
- BER – reparația prin excizia bazelor azotate modificate;
- Reparația *mismatch* – prin corecția erorilor de împerechere a bazelor azotate;
- Autocorecția greșelilor în timpul replicării.

În patologia umană se întâlnesc o serie de boli determinate de defecte ale reparației ADN:

- *Xeroderma pigmentosum*, determinată de incapacitatea de înlăturare a dimerilor pirimidinici, pacienții prezintă hipersensibilitate la radiația UV și manifestă leziuni ale tegumentelor, inclusiv cancer;
- Ataxia-telangiectasia - hipersensibilitatea față de radiațiile ionizante;
- Anemia Fanconi - hipersensibilitatea față de agenții ce provoacă legături covalente nespecifice bicatenare; leucemii și anemie aplastică progresivă;
- Sindromul Bloom - hipersensibilitatea față de numeroși agenți mutageni; imunodeficiențe; retard de creștere; predispoziție la cancere.

Subiecte pentru discuții :

1. Rolul biologic al replicației și reparației.
2. Caracteristica aparatului de replicare.
3. Etapele și particularitățile replicării ADN-ului nuclear.
4. Tipurile de replicare a ADN-ului în diferite sisteme biologice. Importanța practică a cunoașterii particularităților de replicare a ADN-ului viral și bacterian.
5. Sistemele reparative ale celulei umane și funcția lor.
6. Telomerii și telomeraza.

1. Definiți noțiunile:

Replicare

Replicon

Replisomă

Primosomă

Primer

Catenă lider

Fragment Okazaki

Telomerază

Reparație

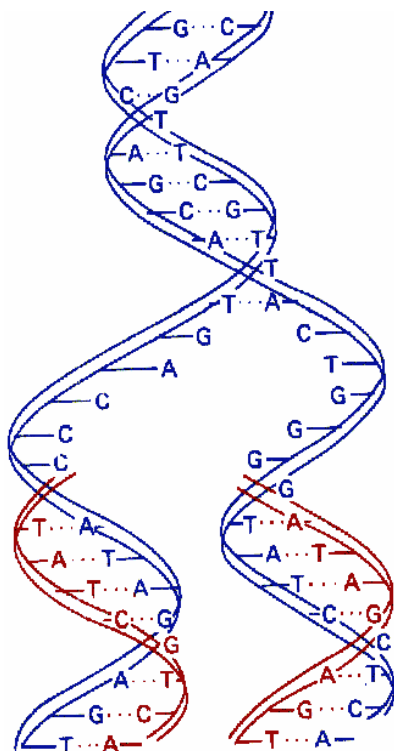
Aparat de reparație

Aparat de replicare

2. Completați tabelul: „Caracteristica generală a replicării”

Definiție	
Principii de realizare	
Matrița utilizată	
Unități de polimerizare	
Enzimele responsabile	
Momentul realizării	
Rol biologic	

3. Ce principii ale replicării puteți evidenția în figura dată?



4. Modelați replicarea fragmentului dat de ADN:



a) Care catenă este utilizată în calitate de matriță?

b) Câte molecule de ADN ați obținut?

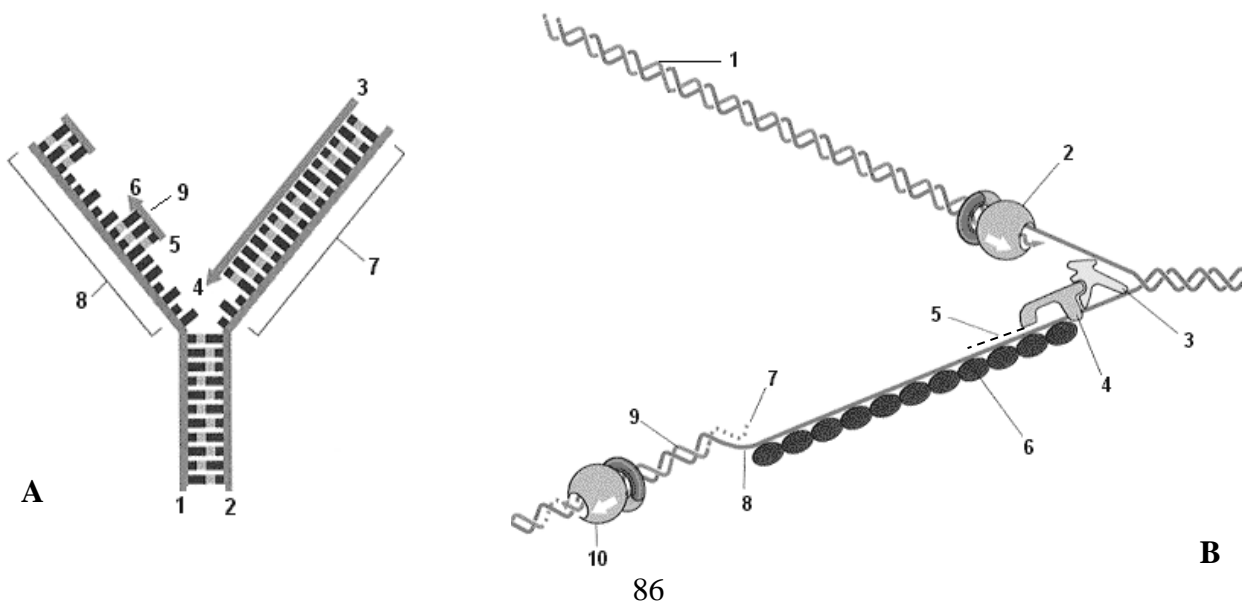
c) Moleculele sintetizate se aseamnă între ele?

d) Moleculele sintetizate se aseamnă cu molecula inițială?

5. Completați tabelul: „Aparatul de replicare”

	Funcții	Rol biologic
ADN-polimeraza		
Primaza		
Helicaza		
Topoizomeraza		
Proteine SSB		
ADN - catena 5'→3'		
ADN - catena 3'←5'		
Situsul ORI		
dNTP		
NTP		
Telomeraza		
Factori de creștere (mitogeni)		

6. Completați legenda figurilor:

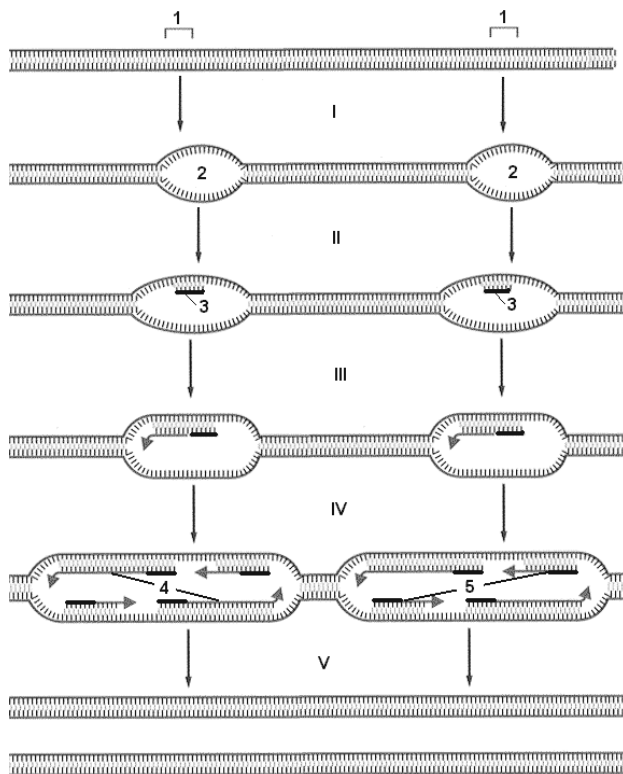


7. Completați tabelul: „Particularitățile replicăției la diferite organisme”

Caracteristica	ADN nuclear	ADN mitocondrial
Numărul de repliconi		
Numărul secvențelor ORI		
Enzimele participante		
Modelul replicării		
Numărul de molecule rezultate		
Perioada ciclului celular		

Analizați tabelul și scoateți în evidență importanța practică a cunoașterii particularităților replicării la diferite organisme.

8. Completați legenda figurii (cifre arabe) și etapele replicării (cifre romane):

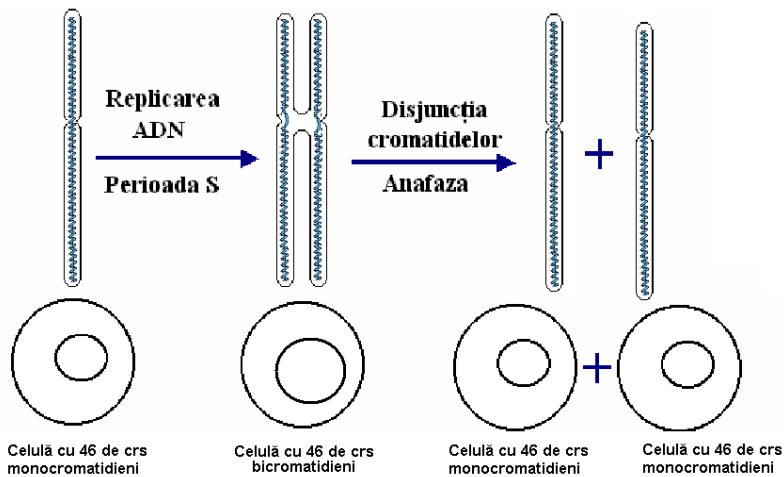


Dați denumire schemei: _____

Unde puteți întâlni acest model de replicare?

Ce rol biologic are acest model de replicare?

9. Analizați figura și găsiți răspunsuri la următoarele întrebări:

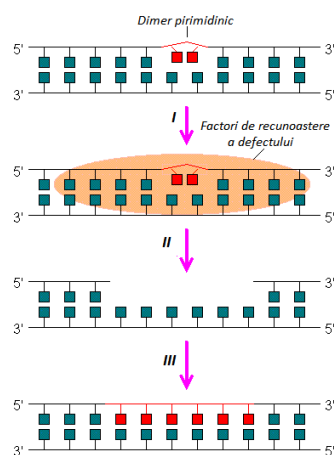
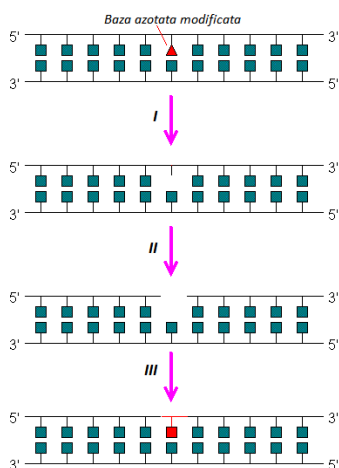


- Din ce este format cromozomul monocromatidian?
- Din ce este format cromozomul bicromatidian?
- Care este originea cromozomului monocromatidian?
- Care este origine cromozomului bicromatidian?
- Care este rolul biologic al replicării ADN-ului cromozomului?

10. Completați tabelul: „Reparația ADN”

	Reparația BER	Reparația NER
Definiție		
Cum se recunoaște defectul		
Cum se înlătură defectul		
Cum se completează golul		
Etape		
Enzime responsabile		
Rol biologic		

Analizați tabelul și identificați tipul de reparație din schemele de mai jos; numiți etapele principale indicate cu cifre și responsabilii la fiecare etapa:



11. O persoană a fost expusă la acțiunea razelor ultraviolete și riscă producerea unor modificări în ADN-ul celulelor epidermisului:

- Ce modificări pot apărea în molecula de ADN?
- Cum pot fi înlăturate?
- Ce sistem enzimatic va activa în celula afectată?
- Care sunt consecințele blocării reparației

12. Din pulpa dentară unei persoane au fost extrase și analizate celulele. Rezultatele au arătat următoarele:

- prima categorie de celule aveau 7 picograme de ADN, ce corespund celor 46 molecule de ADN;
- a doua categorie – 8-10 picograme de ADN;
- a treia categorie – 14 picograme de ADN.

Prin ce explicații diferențele?

13. În loc de concluzii, completați tabelul: „Analiza comparativă a replicației și transcripției”

	Replicarea	Transcripția
Secvențe reglatoare ale inițierii procesului		
Secvențe reglatoare ale terminării procesului		
Etapele principale de desfășurare		
Tipurile de monomeri necesari		
Enzime implicate		
Principiile generale de realizare		
Matrița utilizată		
Produse finale		
Perioada ciclului celular de desfășurare		
Rolul biologic		

Finalități:

1. Înțelegerea mecanismelor moleculare implicate în dublarea materialului genetic și stabilitatea informației genetice în succesiunea generațiilor;
2. Să știți particularitățile replicării ADN-ului nuclear și mitocondrial.
3. Înțelegerea principalelor diferențe în replicarea ADN eucariotic de cel al bacteriilor și virusilor.
4. Cunoașterea rolului biologic și practic al replicației și reparației.

Test de autoevaluare:

1. Principalele caracteristici ale replicării sunt:
 - a. Este semiconservativă;
 - b. Este bidirecțională;
 - c. Este unidirecționată;
 - d. Polimerizarea nucleotidelor are loc în direcția $5' \rightarrow 3'$;
 - e. Implică participarea mai multor factori proteici.
2. Alegeți afirmația falsă despre secvența ORI:
 - a. Reprezintă punctul de origine al replicării;
 - b. O secvență specifică de nucleotide, numită secvență autonomă de replicare;
 - c. Numărul secvențelor ORI este egal cu numărul de repliconi;
 - d. La eucariote este asociată cu metaloproteine de axa proteică a cromozomilor;
 - e. La organisme diferite specii numărul constant de secvențe ORI
3. Care dintre afirmații se referă la ADN-helicaze?
 - a. Realizează despiralizarea și denaturarea locală a ADN-ului prin hidroliza ATP;
 - b. Este responsabilă de formarea furcilor replicative;
 - c. O singură helicază este suficientă pentru formarea celor două furci replicative;
 - d. Fiecare furcă replicativă are helicaza proprie;
 - e. Împreună cu primaza formează complexul primosomul.
4. Primaza are următoarele caracteristici:
 - a. Are activitate ARN-polimerazică
 - b. Stabilizează monocatenele de ADN denaturat.
 - c. Inițiază sinteza ARN-primer;
 - d. Împreună cu helicazele formează complexul primosom;
 - e. Inițiază sinteza unei secvențe scurte de ribonucleotide;
5. Topoizomerazele:
 - a. Realizează despiralizarea și denaturarea locală a moleculei de ADN;
 - b. Inițiază sinteza ARN-primerului;
 - c. Scindează legăturile fosfodiesterice, relaxând dublul helix;
 - d. Enzime capabile să sintetizeze catene noi de ADN pe catene matrițe;
 - e. Leagă capetele fragmentelor de ADN prin formarea legăturilor $3' \rightarrow 5'$ fosfodiesterice;
6. Care dintre enzimele aparatului de replicare posedă funcție nucleazică?
 - a. ADN-helicaze;
 - b. Primaza;
 - c. Topoizomerazele;
 - d. ADN-polimeraza;
 - e. ADN-ligaza.
7. Care dintre afirmații se referă la activitatea ADN-polimerazei?
 - a. Sintetizează catene noi de ADN prin extinderea ARN-primerului;
 - b. Poate iniția sinteza unei catene noi de ADN și în absența unei catene preexistente;
 - c. Sinteza se produce doar în direcția $5' \rightarrow 3'$;
 - d. Citirea are loc doar în direcția $3' \rightarrow 5'$;
 - e. Prezintă și activitate nucleazică;
8. Replicarea de tip θ este caracteristică pentru:
 - a. Virusuri;
 - b. Procariote;
 - c. Eucariote;
 - d. Procariote și eucariote;
 - e. Nici un răspuns nu este corect.

9. Replicarea de tip σ este caracteristic pentru:
 - a. Virusuri;
 - b. Virusuri și unele procariote;
 - c. Virusuri și unele eucariote;
 - d. Unele procariote și eucariote;
 - e. Virusuri, unele procariote și eucariote.
10. Pentru replicarea ADN la eucariote este caracteristic:
 - a. Replicarea începe concomitent în mai multe puncte ORI;
 - b. Este asincronă;
 - c. Secvențele eucromatice se replică înaintea celor heterocromatice;
 - d. Secvențele heterocromatice se replică înaintea celor eucromatice;
 - e. Are loc numai în perioada S a ciclului celular.
11. Particularități ale replicării ADN-ului mitocondrial sunt:
 - a. Fiecare catenă conține câte un situs de inițiere propriu;
 - b. Sinteza începe de pe catena H;
 - c. Sinteza începe de pe catena L;
 - d. Replicarea celor două catene este asincronă;
 - e. Are loc numai în perioada S a ciclului celular.
12. Particularități ale replicării ADN la eucariote:
 - a. Are loc numai în perioada S a ciclului celular;
 - b. Este asincronă;
 - c. Secvențele eucromatice se replică înaintea celor heterocromatice;
 - d. Secvențele heterocromatice se replică înaintea celor eucromatice;
 - e. Replicarea începe concomitent în mai multe puncte ORI.
13. Telomeraza:
 - a. Participă la replicarea regiunilor telomerice;
 - b. Proteina cu funcția de revers transcriptază;
 - c. Conține ARN în calitate de matriță;
 - d. Se întâlnește și la procariote;
 - e. Este caracteristică doar pentru eucariote.
14. Fragmentele Okazaki:
 - a. Se sintetizează de pe catena matriță $5' \rightarrow 3'$ a furcii de replicare;
 - b. Se sintetizează de pe catena matriță $3' \rightarrow 5'$ a furcii de replicare;
 - c. Au aceeași lungime la pro- și eucariote;
 - d. Sunt sintetizate discontinuu în direcția $5' \rightarrow 3'$;
 - e. ADN polimeraza nu participă la sinteza lor.
15. Alegeți afirmația falsă pentru reparație:
 - a. Proces de restabilire a leziunilor din moleculele de ADN;
 - b. Asigură păstrarea intactă a materialului genetic de-a lungul generațiilor;
 - c. Este caracteristic doar pentru eucariote;
 - d. Are loc doar în moleculele de ADN;
 - e. La eucariote este controlată de producția mai multor gene.
16. Reparația:
 - a. Proces de restabilire a leziunilor din moleculele de ADN;
 - b. Asigură păstrarea intactă a materialului genetic de-a lungul generațiilor;
 - c. Este caracteristică doar pentru ADN;
 - d. Se realizează atât la pro- cât și la eucariote;
 - e. Poate avea loc în molecule de ARN.

17. Substituția unui nucleotid în molecula de ADN determină:
- Modificarea unei secvențe a moleculei de ADN;
 - Modificarea structurii moleculei de ADN;
 - Poate împiedica replicarea și transcripția;
 - Reprezintă erori ale replicării;
 - Pot fi rezultatul dezaminării bazelor azotate.
18. Modificările structurale ale moleculelor de ADN:
- Afectează doar secvența nucleotidelor în molecula de ADN;
 - Se formează în rezultatul apariției legăturilor covalente nespecifice între nucleotide;
 - Legături nespecifice se pot forma în cadrul unei catene sau între catenele opuse;
 - Pot apărea sub acțiunea razelor UV;
 - Nu împiedică replicarea și transcripția.
19. Analizați elementele din șir și repartizați-le în coloane conform proceselor la care participă: ATP, dATP, UTP, GTP, ADN-polimeraza, ADN, primaza, ORI, ligaza, endonucleaza, glicoliaza, ADN cu dimer pirimidinic, helicaza, catena lider, fragmentele Okazaki.

Replicarea ADN nuclear	Replicarea ADN mt	Reparația NER	Reparația BER
_____	_____	_____	_____
_____	_____	_____	_____
_____	_____	_____	_____
_____	_____	_____	_____
_____	_____	_____	_____
_____	_____	_____	_____
_____	_____	_____	_____

LUCRAREA PRACTICĂ Nr. 11

CICLUL CELULAR

Ciclul celular reprezintă ansamblul de procese genetice, biochimice și morfologice ce se petrec în celulă de la nașterea ei până la diviziunea ei în două celule, specializare sau moarte. În general, ciclul celular cuprinde patru perioade distincte:

- **perioada postmitotică sau presintetică**, când celula își restabilește activitatea genelor, încetinită în timpul mitozei; își stabilește calea de evoluție – creștere și proliferare, diferențiere sau apoptoză (moarte celulară programată);
- **perioada sintetică**, care se declanșează ca răspuns la semnalele mitogene prin replicarea ADN-ului cromozomial – dublarea exactă și completă a materialului genetic nuclear; dublarea centriolilor care va asigura formarea aparatului mitotic;
- **perioada postsintetică sau premitotică**, care asigură controlul calității ADN-ului replicat, reparația erorilor și acumularea factorilor proteici necesari declanșării și derulării corecte a mitozei; în caz dacă celula nu este suficient de pregătită pentru diviziune, nu și-a reparat greșelile sau și-a epuizat programul de supraviețuire este indus programul apoptotic;
- **mitoza sau diviziunea ecvațională** a celulei ce se caracterizează prin repartizarea egală și identică a cromozomilor la două celule fiice; citokineza asigură repartizarea masei citoplasmatică.

Pentru realizarea corectă a ciclului celular există un sistem foarte complex de control intra- și intercelular grație căruia celulele organismului sunt genetic identice; populațiile de celule ale unui țesut sau organ se află într-un echilibru dinamic cu necesitățile fiziologice ale organismului; celulele înalt specializate își pierd capacitatea proliferativă (de diviziune); celulele epuizate, care au acumulat mutații, celulele nedorite sunt eliminate, fără a afecta alte celule, prin apoptoză.

Cunoașterea particularităților ontogenezei celulelor umane, mecanismelor de control al ciclului celular reprezintă cheia succesului medicinei contemporane în înțelegerea transformării celulare în cancerogeneză sau controlul apoptozei în patologia neurodegenerativă, în senescență.

Subiecte pentru discuții :

1. Periodizarea ciclului celular și caracteristica fiecărei perioade.
2. Rolul biologic al interfazei și mitozei.
3. Dinamica cromozomilor de-a lungul ciclului celular.
4. Caracteristica ciclului centriolar și nucleolar.
5. Factori reglatori ai evoluției diferitelor tipuri de celule în organismul uman.
6. Perioada G₀. Mecanisme genetice în diferențierea celulară.
7. Apoptoza și rolul ei biologic.

1. Definiți noțiunile:

Interfază

Mitoză

Punct de restricție

Cicline

Factor de creștere

Aparat mitotic

Apoptoză

Diferențiere celulară

Proliferare

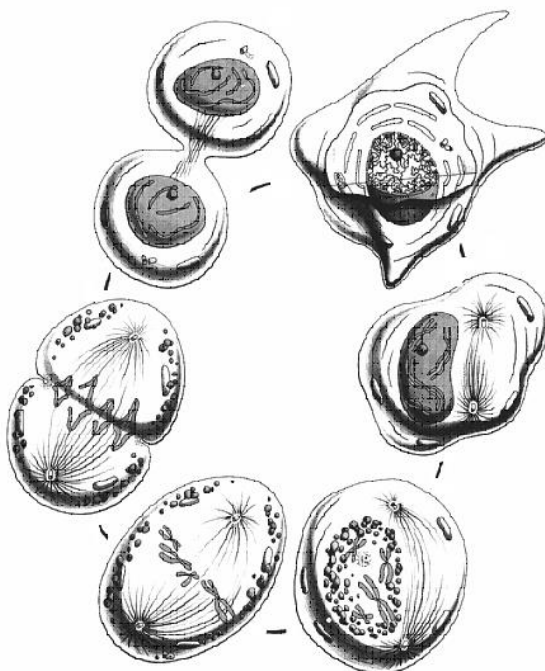
Transformare celulară

Citokineză

Perioada G₀

Transformare celulară

2. Urmăriți dinamica cromozomilor din figură și indicați cu cifre perioada ciclului celular corespunzătoare. Completați figura cu săgeți care ar indica evoluția evenimentelor din celulă.



- 1 G1
- 2 S
- 3 G2
- 4 Profaza
- 5 Metafaza
- 6 Anafaza
- 7 Telofaza

3. Completați tabelul: „Procesele genetice de bază și perioadele ciclului celular”

	G1	S	G2	Mitoză
Replicare				
Reparație				
Transcripția				
Translația				

4. Completați tabelul: „Evenimentele principale din ciclul celular”

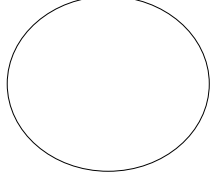
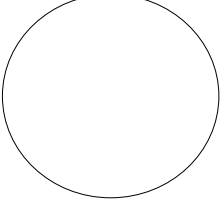
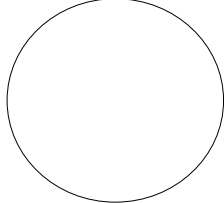
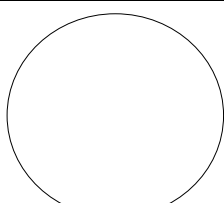
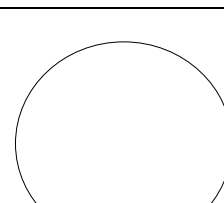
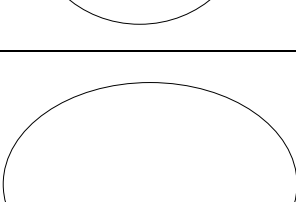
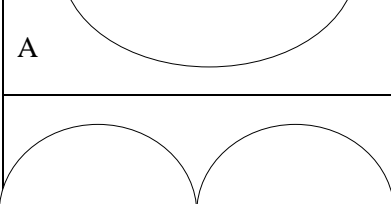
	Dublarea materialului genetic	Repartizarea materialului genetic	Dublarea centrului celular	Prezența nucleolului
G1				
S				
G2				
Profaza				
Metafaza				
Anafaza				
Telofaza				

5. Completați tabelul: „Caracteristica generală a perioadelor ciclului mitotic”

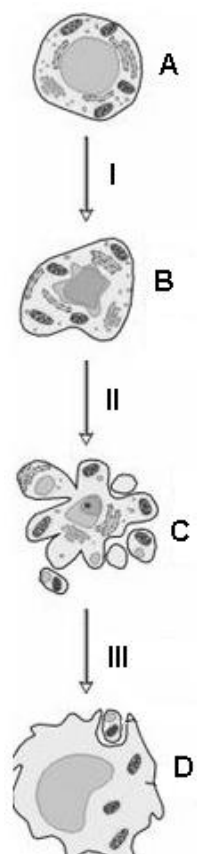
	Evenimente caracteristice	Procese genetice de bază	Nr. molecule de ADN	Nr. de cromozomi	Nr. de cromatide
G1					
S					
G2					
Profaza					
Metafaza					
Anafaza					
Telofaza					

*Nr. de molecule de ADN și de cromozomi caracteristice celulelor umane.

6. Analizați cunoștințele Dv. și schemele de mai jos. Completați desenele caracterizând celulele somatice ale unui organism diploid.

Completați schemele corespunzător perioadei ciclului celular pentru celula cu 6 crs	Inducați formula cromozomială	Evaluati dinamica materialului genetic nuclear	Introduceți procesele celulare caracteristice	Introduceți procesele moleculare caracteristice
G1 				
S 				
G2 				
P 				
M 				
A 				
T 				

7. Analizați etapele și evenimentele celulare în apoptoză și caracterizați-le în tabelul de mai jos:



	Etapa sau evenimentul	Caracteristica
I		
II		
III		
A		
B		
C		
D		

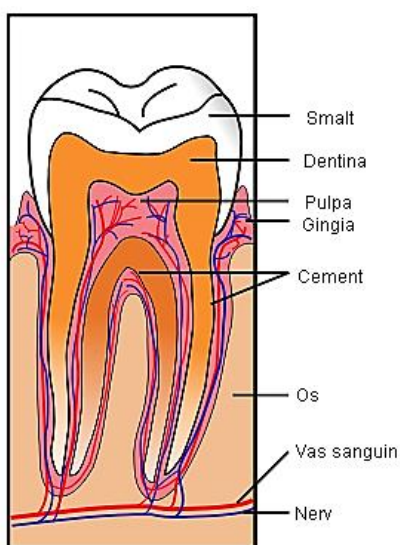
Enumerați celulele ce intră pe cale apoptotică:

8. Completați tabelul și încercați să realizați ce se întâmplă când celulele noastre pierd controlul ciclului celular și apoptoza are loc haotic.

	Apoptoza normală	Apoptoza în exces	Apoptoza deficitară
Țesut nervos			
Epiteliul intestinului			
Țesut hematopoietic			
Epiteliul cavității bucale			
Țesut osos			

9. Completați și analizați tabelul: „Rata proliferativă și particularitățile ciclului celular în diferite tipuri de țesuturi”

Categoriile de celule	Exemple	Perioadele ciclului celular caracteristice
Celule specializate fără capacitate proliferativă		
Celule specializate cu capacitate proliferativă redusă		
Celule nespecializate cu capacitate proliferativă înaltă		
Celule transformate		



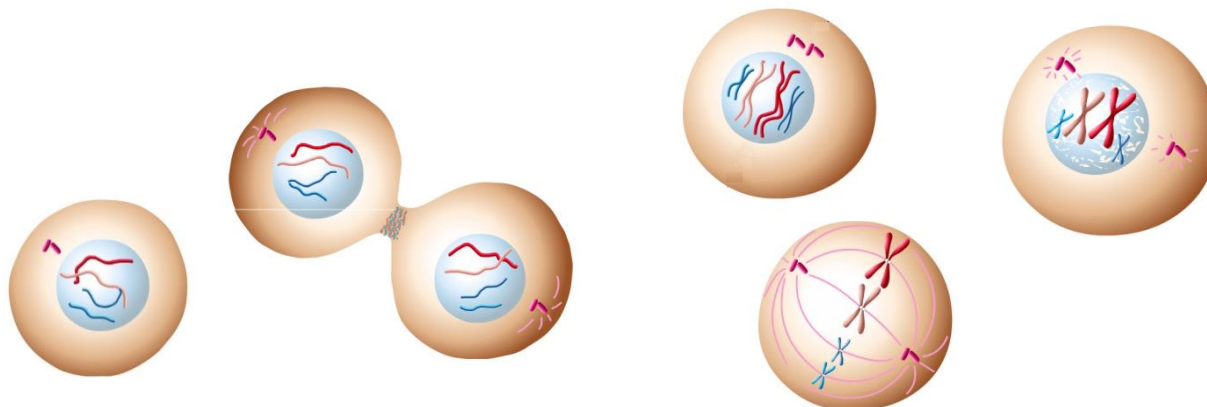
9. Pulpa dentară reprezintă țesut moale, lax din cavitatea dintelui, responsabil de activitatea dintelui (formarea dentinei, alimentarea țesuturilor dintelui, apărarea imună ...). Pulpa conține o varietate mare de celule: odontoblaste, fibroblaști, macrofagi, limfocite, plasmocite, celule dendritice (celule slab diferențiate – celule STEM).

A. Care procese asigură reînnoirea pulpei dentare?

B. Ce procese asigură regenerarea pulpei dentare?

C. În figura de mai jos este prezentată o populație de celule slab diferențiate (asemănătoare cu cele ale pulpei) în diferite perioade.

- 1) Determinați în ce fază se află fiecare din celulele de mai jos;
- 2) Scrieți formula cromozomială pentru fiecare celulă;
- 3) Identificați dacă sunt toate perioadele caracteristice acestui proces;
- 4) Care perioadă lipsește?
- 5) Completați desenele cu schema / schemele care lipsesc.



10. Completați tabelul: “Semnificația teoretică și practică a principalelor elemente legate de ciclul celular”

	Rolul biologic
Mitoza	
Apoptoza	
Perioada G ₀	
Diferențiere celulară	
Punctul de restricție G1 / S	
Punctul de restricție G2 / Mitoză	
Ciclurile A	

Finalități:

1. Cunoașterea evenimentelor principale și periodizării ciclului celular.
2. Să știți dinamica cromozomilor de-a lungul ciclului mitotic.
3. Înțelegerea principalelor mecanisme ale reglării ciclului celular și impactului lor practic.
4. Cunoașterea rolului biologic și practic al mitozei și apoptozei.
5. Recunoașterea fazelor mitozei într-un preparat celular.

Formulați 5 concluzii referitor la rolul celulelor STEM.

1. _____
2. _____
3. _____
4. _____
5. _____

Test pentru autoevaluare:

1. Cromatina este maximal spiralizată în:
A. Interfază; B. Profază; C. Metafază; D. Anafază; E. Telofază.
2. Cromozomul devine bicromatidian:
A. sfârșitul perioadei S; B. G1; C. G2; D. Telofază; E. Anafază.
3. Principalul eveniment al metafazei mitotice:
A. Migrarea cromozomilor; B. Alinierea cromozomilor în plan ecuatorial; C. Separarea cromatidelor surori; D. Dezasamblarea membranei nucleare; E. Sinteza centromerilor.
4. Punctele de restricție se află între:
A. G1 și S; B. S și G2; C. G2 și mitoză; D. Profază și metafază E. Telofază și G1
5. Evenimentele anafazei:
A. Depolimerizarea fibrelor kinetocorice; B. Segregarea simultană a cromatidelor surori; C. Cromozomii devin monocromatidieni; D. Apariția membranei nucleare; E. Cromozomii se grupează la cei doi poli ai celulei
6. Proteinele implicate în reglarea ciclului celular
A. Factorii de creștere; B. Receptorii C. Factorii de transcripție; D. Kinaze; E. Histone și nehistone
7. MPF induce:
A. Formarea fusului de diviziune; B. Dezasamblarea învelișului nuclear; C. Sinteza materialului genetic; D. Condensarea cromozomilor; E. Biosinteza proteinelor.
8. Sinteza tubulinei are loc în:
A. perioada G1; B. perioada S; C. perioada G2; D. profaza; E. Metafaza.
9. Segregarea cromatidelor surori are loc în:
A. Profaza; B. Interfaza; C. Metafaza; D. Anafaza; E. Telofaza.
10. Dublarea materialului genetic are loc în:
A. Profază; B. Perioada G1; C. Metafaza; D. Telofaza; E. Perioada S.
11. Evenimentele profazei:
A. Sinteza ARN; B. Condensarea cromatinei; C. Segregarea cromozomilor; D. Individualizarea cromozomilor; E. Atașarea filamentelor cromozomilor la membrana nucleară.
12. Enumerați caracteristicile mitozei
A. Este o diviziune a celulei sexuale; B. Are loc separarea cromatidelor surori; C. Este o diviziune ecvațională; D. Are loc blocarea transcripției; E. este o diviziune caracteristică celulelor somatice
13. Rolul factorilor reglatori:
A. Inițierea sintezei ADN; B. Derularea replicației ADN; C. Declanșarea mitozei; D. Reglarea transcripției; E. Dublarea componentelor celulare
14. Proprietățile ciclinelor:
A. Se sintetizează continuu în interfază; B. Se distrug în mitoză; C. Se cuplează cu CDK; D. Asigură traversarea perioadelor interfazei; E. Determină ieșirea celulei din mitoză.

15. Asociați fenomenele produse cu fazele corespunzătoare:

- | | |
|----------------------------------|--------------|
| A. Sinteza ADN | 1. Profaza |
| B. Apare placa ecuatorială | 2. Anafaza |
| C. Disjuncția cromatidiană | 3. Telofază |
| D. Asamblarea membranei nucleare | 4. Metafază |
| E. Apariția fusului de diviziune | 5. Interfază |

16. Asociați numărul moleculelor de ADN cu fazele ciclului celular

- | | |
|-------|-------------|
| A. 96 | 1. G1 |
| B. 23 | 2. G2 |
| C. 46 | 3. S |
| D. 92 | 4. Telofază |
| E. 48 | 5. Profază |

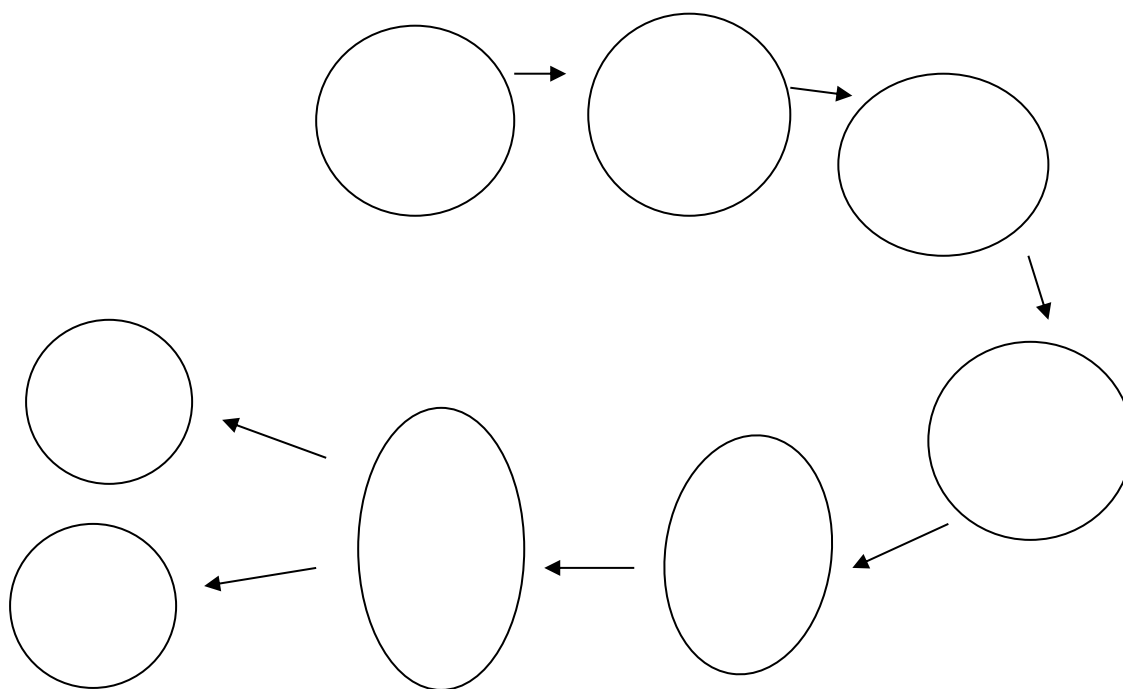
17. Asociați fenomenele produse fazele ciclului celular

- | | |
|---|-------------|
| A. Clivarea longitudinală a centromerului | 1. Telofaza |
| B. Sinteza factorului de condensare a centromerului | 2. G1 |
| C. Citochineza | 3. Metafaza |
| D. Sinteza ARN | 4. Anafaza |
| E. Cromatina maximal condensată | 5. G2 |

18. Asociați numărul moleculelor de ADN cu fazele ciclului celular

- | | |
|-------|-------------|
| A. 92 | 1. G1 |
| B. 46 | 2. S |
| C. 23 | 3. G2 |
| D. 44 | 4. Telofază |
| E. 72 | 5. Anafază |

19. Desenați schematic celulele cu $2n=6$ crs in diferite perioade ale ciclului celular și indicați



LUCRAREA PRACTICĂ Nr. 12

RECOMBINAREA MATERIALULUI GENETIC

Materia vie este supusă permanent modificărilor ca răspuns la acțiunea factorilor de mediu biotici și abiotici. Variabilitatea, de regulă, poartă caracter adaptiv și este importantă pentru evoluția viului. Unul din mecanismele universale ce asigură diversitatea intra- și interpopulațională este capacitatea ADN-ului de recombinare. La eucariote recombinarea materialului genetic este asigurată de particularitățile înmulțirii sexuate. În primul rând este recombinarea genomică în timpul fecundației – contopirii celulelor de origine parentală diferită. În al doilea rând procesele de recombinare intra- și intercromozomiale în timpul gametogenezei, proces de formare a celulelor specializate pentru înmulțirea sexuată – gameți sau celule sexuale.

Gameții sunt celule cu set haploid de cromozomi, iar la contopirea gametului feminin cu cel masculin se reface setul diploid de cromozomi caracteristic speciei ($23,X + 23,X=46,XX$ sau $23,X + 23,Y=46,XY$). Gameții se formează din celule diploide prin două diviziuni succesive meiotice: prima diviziune este reduțională, iar a doua este ecvațională. În timpul diviziunii reduționale are loc conjugarea cromozomilor omologi materni și paterni în timpul căreia este posibil schimbul reciproc de secvențe nucleotidice – *crossing-over*ul sau recombinarea intracromozomială. În anafaza diviziunii reduționale are loc disjuncția cromozomilor omologi și migrarea lor spre poli opuși ai celulei și în consecință formarea celulelor haploide. Orientarea cromozomilor spre unul din poli celulei este aleatorie și apar numeroase variante de combinare a cromozomilor neomologi de origine maternă și paternă – recombinarea intercromozomială (numărul de variante ce se pot obține este de 2^n , unde n – numărul de perechi de cromozomi). Astfel, meioza reprezintă procesul de maturare a celulelor specializate pentru înmulțirea sexuată a eucariotelor, ce asigură și haploidizarea setului de cromozomi – condiție importantă pentru păstrarea speciei, și recombinarea materialului genetic, importantă pentru selecție și evoluție.

Înțelegerea proceselor ce asigură recombinarea materialului genetic va determina înțelegerea mecanismelor ce stau la baza transmiterii independente și înlănțuite a caracterelor normale și patologice din generație în generație; înțelegerea mecanismelor de producere a anomaliilor cromozomiale de număr și de structură; calcularea riscului de recurență a unor anomalii genetice și instituirea unor măsuri de prevenire a nașterii copiilor cu defecte genetice grave.

Subiecte pentru discuții :

1. Recombinarea genetică și rolul ei biologic.
2. Tipurile de recombinare genetică la eucariote și mecanismele ce le determină.
3. Etapele majore ale gametogenezei și particularitățile fecundației.
4. Dinamica cromozomilor în meioză.
5. Mecanismele moleculare ale *crossing-over*ului.
6. Caracteristica comparativă a mitozei și meiozei.

1. Definiți noțiunile :

Recombinare genetică

Crossing-over

Gamet

Gametogeneză

Fecundație

Celulă diploidă

Celulă haploidă

Diviziune reduțională

Diviziune ecvațională

Recombinare genomică

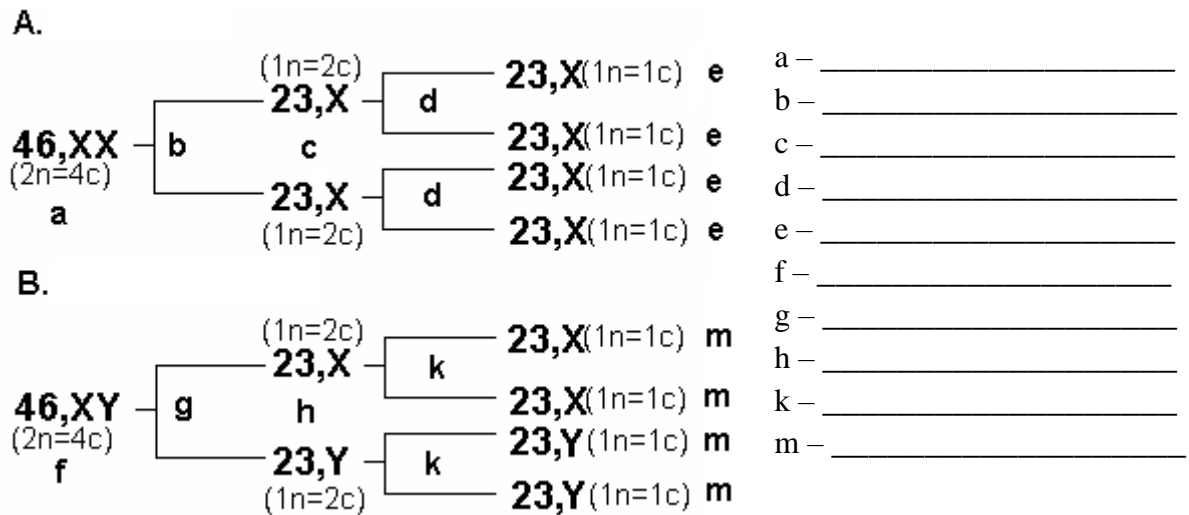
Recombinare intracromozomială

Recombinare intercromozomială

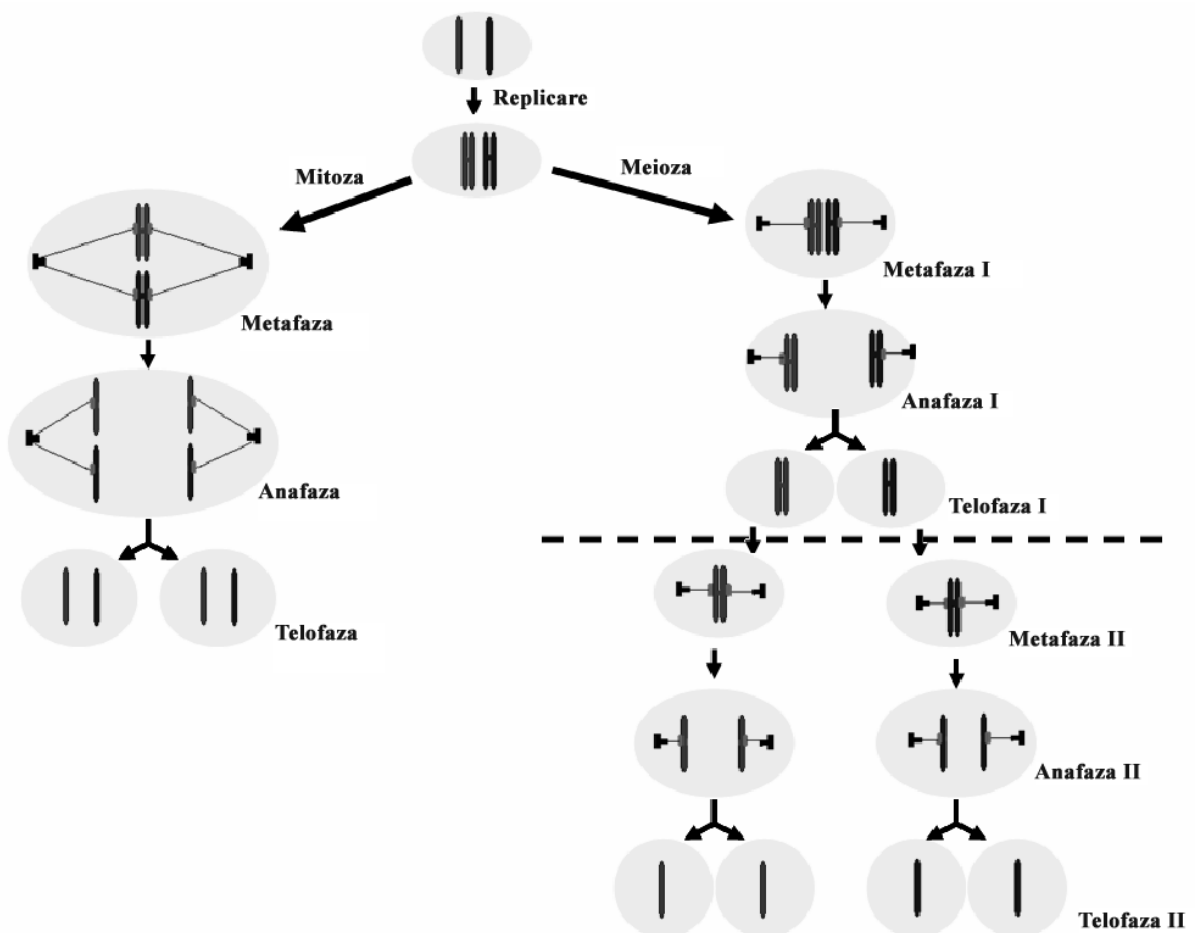
2. Completați tabelul: „Dinamica formulei cromozomiale în diferite celule ale organismului uman”

Tip de celule	Nr. de cromozomi	Formula cromozomială	Biogeneza
Celula somatică			
Ovogonia			
Spermatogonia			
Ovocitul I			
Spermatocitul I			
Ovocitul II			
Spermatocitul II			
Ovulul			
Spermatida			
Spermatozoidul			
Zigotul			

3. Completați legenda figurii: „Particularitățile meiozei celulelor umane”



4. Analizați schema de mai jos și găsiți elementele de deosebire dintre mitoză și meioză. Realizați caracteristica comparativă prin completarea tabelului.



	Mitoza	Meioza	
		I-a diviziune	a II-a diviziune
Celulele ce se divid			
Replicare înainte de diviziune			
Profaza			
Metafaza			
Anafaza			
Telofaza			
Celulele obținute			
Rolul biologic			

5. Asociați evenimentele legate de meioză cu momentul realizării.

Evenimente caracteristice	Momentul realizării	Rol biologic
Replicarea ADN-ului cromozomial		
Conjugarea cromozomilor omologi		
<i>Crossing-overul</i>		
Recombinarea intracromozomială		
Aranjarea bivalenților în plan ecuatorial		
Disjuncția cromozomială		
Recombinarea intercromozomială		
Formarea gametocitelor haploizi		
Disjuncția cromatidiană		
Formarea gameților haploizi		
Recombinarea genomică		

*Evidențiați evenimentele principale care asigură:

a) recombinarea materialului genetic

b) haploidizarea setului de cromozomi

c) refacerea setului diploid de cromozomi

6. Analizați figura și răspundeți la următoarele întrebări:

1) Care sunt elementele participante la *crossing-over*?

2) Care cromozomi se numesc omologi?

3) Care proces favorizează *crossing-over*ul?

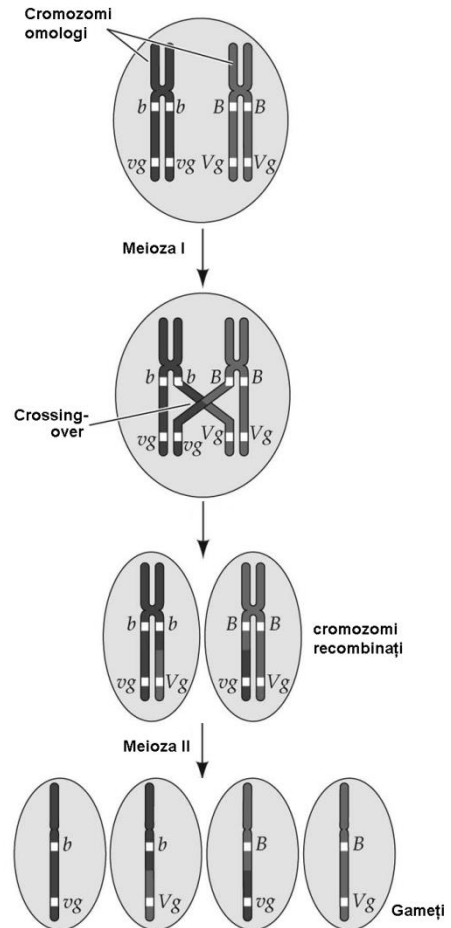
4) Când se produce *crossing-over*ul?

5) Care sunt consecințele *crossing-over*ului?

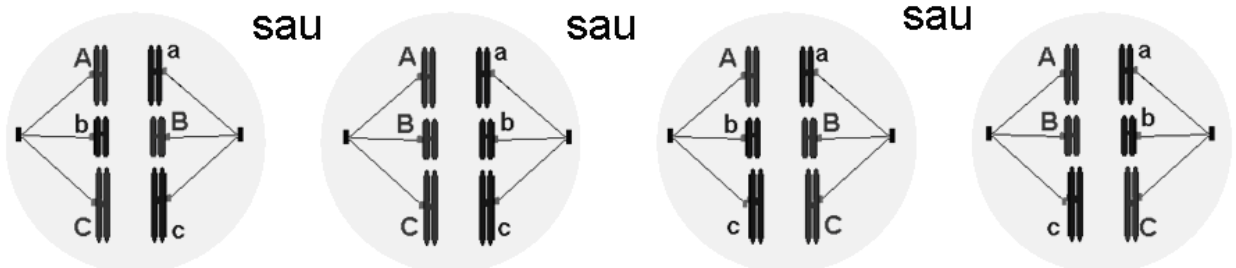
6) Care dintre gameții din figură sunt recombiinați?

7) Care din gameți sunt nerecombiinați?

8) Care este rolul biologic al *crossing-over*ului?



7. Analizați variantele de disjuncție a cromozomilor în Anafaza I a meiozei.



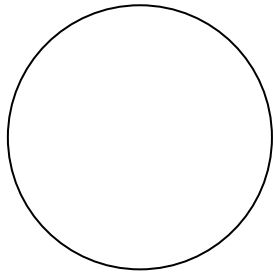
Concluzii:

La combinarea independentă a cromozomilor neomologi se formează tipuri de gameți. Variantele de gameți sunt: AbC; _____.

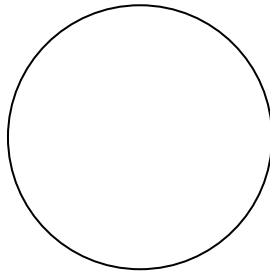
Tipul de recombinare este _____.

8. Desenați schema dinamicii crs celulelor în diferite faze ale mitozei sau meiozei:

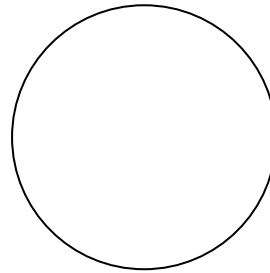
M
dacă $2n=10$ crs



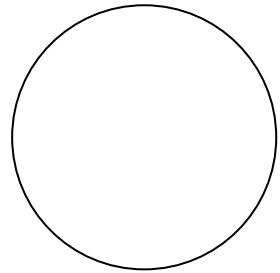
MI
dacă $2n=6$ crs



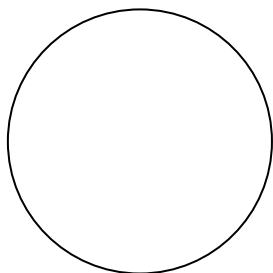
MII
dacă $2n=4$ crs



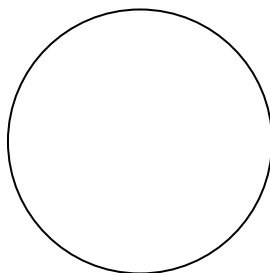
M
dacă $2n=8$ crs



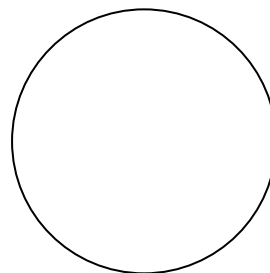
A
dacă $2n=8$ crs



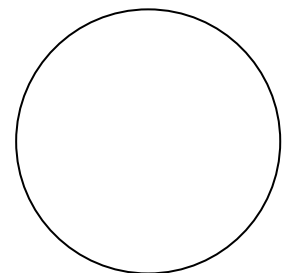
AI
dacă $2n=10$ crs



AII
dacă $2n=14$ crs



AII
dacă $2n=4$ crs



Finalități:

1. Cunoașterea evenimentelor principale și periodizării meiozei.
2. Să știți dinamica cromozomilor de-a lungul meiozei.
3. Cunoașterea particularităților gametogenezei la om.
4. Cunoașterea tipurilor, mecanismelor și a rolului biologic a recombinării genetice.
5. Recunoașterea fazelor meiozei într-un preparat celular.

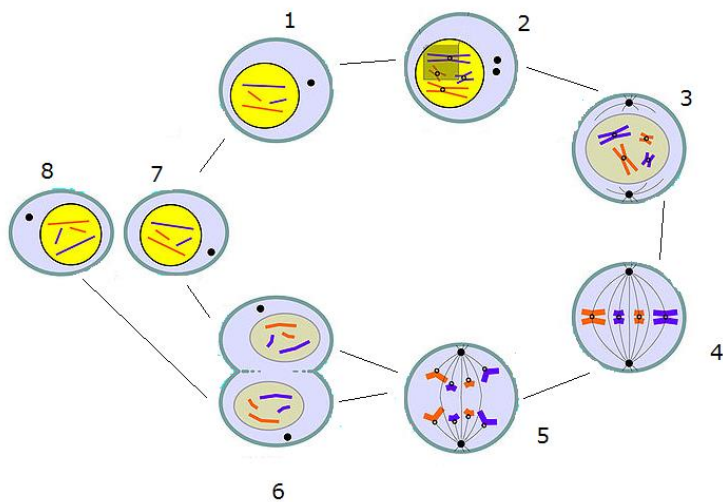
Test pentru autoevaluare

1. Profaza I cuprinde următoarele fenomene genetice:
 - a. sinapsis – conjugarea cromozomilor omologi;
 - b. formarea bivalenților (tetradelor);
 - c. condensarea cromatinei;
 - d. clivarea centromerilor;
 - e. recombinarea intercromosomică.
2. Pe parcursul metafazei I se desfășoară următoarele procese:
 - a. dispare complet anvelopa nucleară;
 - b. bivalenții se aranjează în plan ecuatorial;
 - c. kinetocorii de pe centromerii bivalenților prin fibre kinetocorice se leagă de polii opuși ai celulei;
 - d. kinetocorii centromerului al fiecărui cromozom bicromatidic se leagă de polii opuși ai celulei prin fibre kinetocorice;
 - e. chiasmele, localizate terminal, la sfârșitul metafazei I disociază, eliberând cromozomii din bivalent.
3. Caracteristici ale meiozei sunt:
 - a. se realizează prin două diviziuni succesive – reducțională și ecuatorială;
 - b. reprezintă două interfaze cu replicarea ADN-ului;
 - c. se desfășoară în gonade;
 - d. rezultă patru celule haploide ($1n$);
 - e. rezultă patru celule diploide ($2n$).
4. *Crossing-overul*:
 - a. se realizează în profaza I;
 - b. este catalizat de complexe proteice ale nodulilor de recombinare a complexului sinaptonemal;
 - c. implică ruperea în aceeași poziție a cromatidelor cromozomilor omologi;
 - d. implică schimbul reciproc de secvențe între cromatidele surori;
 - e. implică schimbul reciproc de secvențe între cromatidele cromozomilor omologi.
5. Evenimentele celulare a profazei II:
 - a. formarea unui nou aparat acromatic;
 - b. dezorganizarea învelișului nuclear ;
 - c. cromatidele surori devin vizibile în microscopul optic.
 - d. diviziunea (clivarea) centromerilor;
 - e. fibrele fusului de diviziune leagă cromozomul bicromatidic de polii celulari opuși prin kinetocori.
6. Meioza II:
 - a. reprezintă o diviziune reducțională;
 - b. este diviziune ecuatorială;
 - c. este asemănătoare cu mitoza;
 - d. rezultă patru celule haploide ($1n$);
 - e. rezultă patru celule cu diferite combinații de gene.
7. Anafaza I se caracterizează prin:
 - a. disjuncția cromozomială;
 - b. migrarea anafazică – migrarea cromozomilor bicromatidici spre polii opuși ai celulei;
 - c. recombinarea intercromozomială;
 - d. formarea a unui număr mare de combinații cromozomice în gameți;
 - e. încrucișarea cromozomică între cromozomii omologi – *crossing-over*.

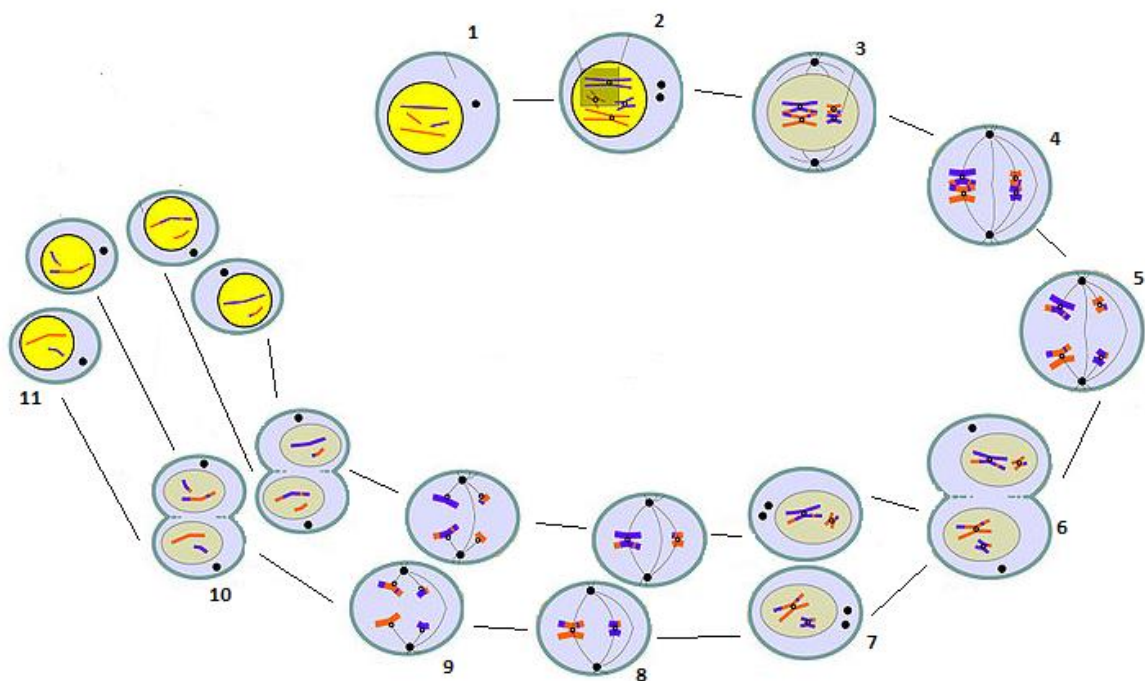
8. Prin meioză se realizează:
 - a. diviziunea celulelor somatice;
 - b. formarea gameților;
 - c. formarea zigoților;
 - d. recombinarea independentă a cromozomilor în anafaza I;
 - e. fenomenul *crossing-over* în profaza I.
9. Complexul sinaptonemal:
 - a. se formează în momentul conjugării;
 - b. constă din două axe ale cromozomilor omologi și o lamă proteică (element central);
 - c. reprezintă nodul de recombinare);
 - d. asigură procesul de recombinare intercromosomică.
 - e. asigură procesul de recombinare intracromozomică.
10. În profaza I se realizează procesele:
 - a. dublarea ADN;
 - b. dublarea centriolilor;
 - c. formarea bivalenților, tetradelor;
 - d. conjugarea cromozomilor omologi;
 - e. procesul *crossing-over*.
11. Meioza I se caracterizează prin:
 - a. condensarea cromatinei, formarea cromozomilor metafazici;
 - b. recombinarea intracromozomică ;
 - c. clivarea centromerilor;
 - d. migrarea la polii celulari ai cromozomilor bicromatidici;
 - e. reducerea la jumătate a numărului de cromozomi ($1n$);
12. Interfaza premeiotică II:
 - a. este de durată mai lungă decât interfaza mitozei;
 - b. separă cele două diviziuni meiotice;
 - c. întotdeauna este întâlnită la celulele eucariote;
 - d. se caracterizează prin absența perioadei S;
 - e. pe parcursul ei se desfășoară procese transcripționale și de proteosinteză.
13. Pe parcursul telofazei I se desfășoară următoarele evenimente cu excepția:
 - a. reasamblarea nucleilor;
 - b. cromozomii bicromatidici se găsesc la polii opuși ai celulei;
 - c. cromozomii monocromatidici disting polii opuși ai celulei;
 - d. apariția nucleolilor;
 - e. formarea a doi gametociți secundari cu setul haploid de cromozomi bicromatidieni.
14. Telofaza II se caracterizează prin:
 - a. reorganizarea nucleilor;
 - b. condensarea cromatinei;
 - c. separarea celulelor rezultate;
 - d. formarea a patru celule cu seturi haploide de cromozomi monocromatidieni, având diferite combinații de gene;
 - e. formarea a patru celule genetic identice cu seturi haploide de cromozomi monocromatidieni;

15. Analizați schemele, identificați fazele în care se află fiecare din celulele date.

A.

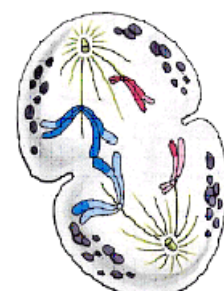


B.

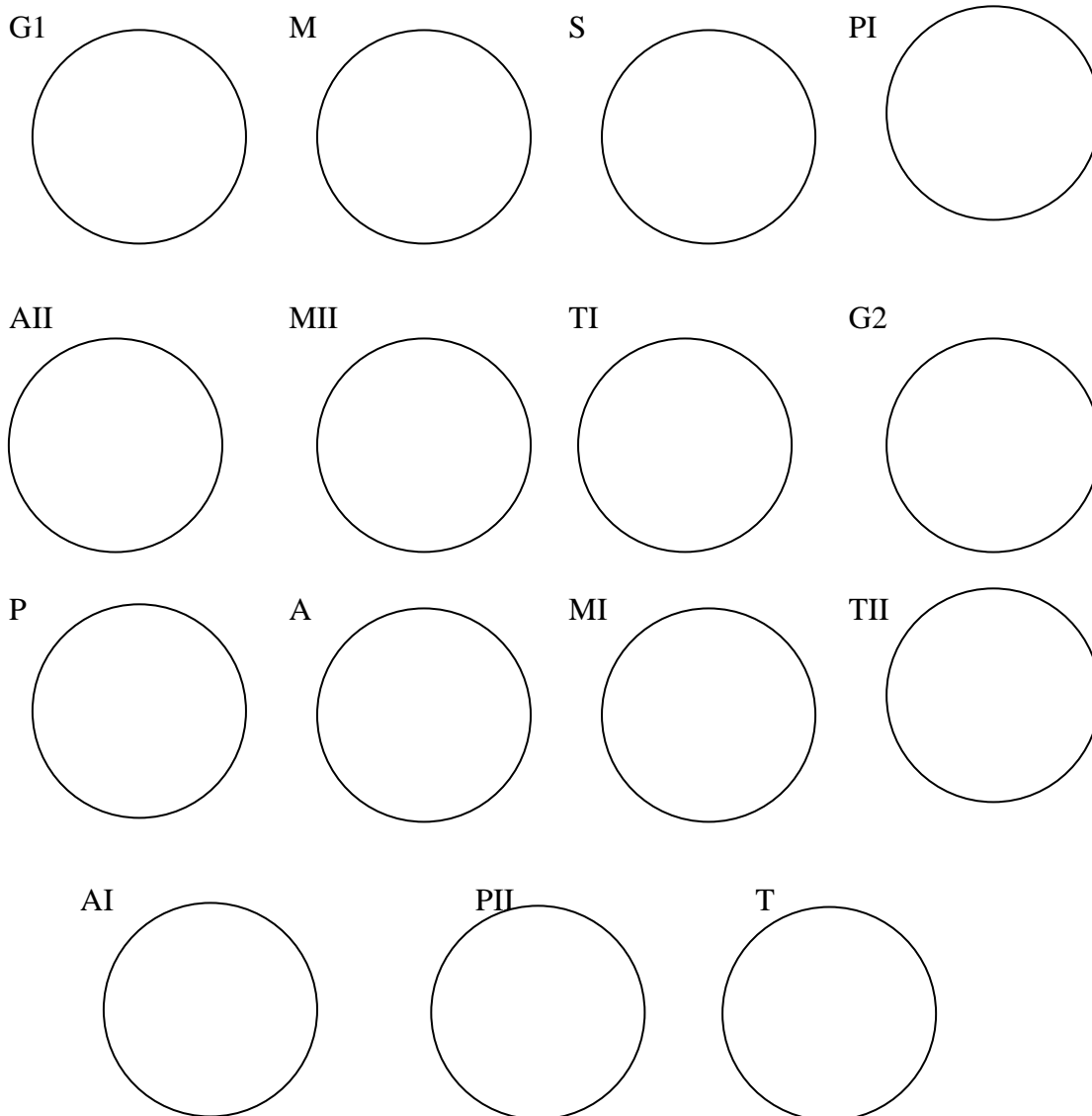


16 Analizați schema.

- Descrieți evenimentele din celulă
- În ce fază este celula?
- Ce proces caracterizează această fază?
- Unde în organismul Dv. puteți găsi celule asemănătoare?



17. Desenați schema celulelor în diferite faze ale mitozei sau meiozei, dacă $2n=10$ cromozomi



LUCRAREA PRACTICĂ Nr. 13

TEHNOLOGIA ADN RECOMBINANT

ADN-recombinant reprezintă o moleculă de ADN obținută din fragmente de origine diferită, capabilă să se replice și să fie transcrisă. Tehnologia ADN-recombinant este o ramură a biotehnologiei ce se referă la obținerea și utilizarea ADN-recombinant (ADN-rec). Cu ajutorul acestei tehnologii a apărut posibilitatea clonării unor gene umane, obținerii și analizei proteinei codificate, sinteza proteinelor recombinante, obținerea ADN-ului necesar tehnicilor de testare genetică. Prin această tehnologie s-a obținut insulina umană, hormonul uman de creștere, vaccinul pentru hepatita B, etc.

ADN-ul are dimensiuni submicroscopice și orice manipulare necesită implicație cu mare precizie, reagenți testați și utilaj specific. Tehnologia ADN-ului recombinat și manipularea materialului genetic implică o serie de proceduri prin care este posibilă tăierea ADN-ului în puncte specifice, folosind *enzime de restricție* care recunosc secvențe specifice în ADN – *situsuri de restricție* și clivează ADN-ul în segmente de diferită lungime, care pot fi clonate în vectori (plasmide, bacteriofagi λ , cosmide) într-o celulă gazdă. Tehnologia ADN-rec se numește și tehnică de clonare a ADN-ului *in vivo*.

Clonarea genelor umane într-o celulă bacteriană implică probleme în expresia genică, deoarece genele eucariote au secvențe reglatorii complexe, conțin introni, iar celula bacteriană nu posedă aparat de *splicing*. Dificultățile au fost rezolvate datorită ideii de a obține ADN complementar (ADNc) ARNm, izolat din citoplasma celulelor în care se expresează gena țintă. ARNm servește drept matriță pentru ADNc, sintetizat de o reverstranscriptază.

Fragmentele de restricție sau ADNc clonat pot fi identificate direct prin hibridizare sau pot fi izolate și analizate prin diferite tehnici. Se pot forma biblioteci de ADN genomic, ADNc sau de gene, care conțin colecții de fragmente diferite de ADN dintr-o anumită sursă.

În 1985 a apărut o nouă posibilitate de clonare a moleculelor de ADN prin amplificare selectivă a unui anumit segment *in vitro* – *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Tehnica folosește principiul de sinteză matricială a ADN, utilizând doi primeri complementari secvențelor flancante a genei de interes. Denaturarea, legarea primerilor și elongarea catenelor noi sunt asigurate de schimbarea ciclică a regimului de temperatură și utilizarea unei polimeraze termostabile - *Taq-polimeraza*. Pe parcursul PCR la fiecare circa 3-10 minute rezultă o nouă dublare a secvenței inițiale de ADN și, astfel, numai în câteva ore după circa 30 de cicluri se obțin milioane de copii a secvenței de ADN suficiente pentru vizualizare. Tehnica PCR permite amplificarea ADN-ului genomic nuclear, mitocondrial, exogen, ARNm și este utilizată cu succes în testarea genetică, diagnosticul bolilor genetice și a celor infecțioase.

Subiecte pentru discuție :

1. Definierea și etapele majore ale tehnologiei ADN-recombinant.
2. Aplicațiile practice ale Tehnologiei ADN-recombinant.
3. Caracteristica enzimelor de restricție.
4. Caracteristica vectorilor și gazdelor de clonare.
5. Sinteza ADNc și rolul ei practic.
6. Particularitățile clonării *in vivo* și *in vitro*.
7. Aplicațiile practice ale tehnici PCR.

1. Definiți noțiunile :

ADN-rec

ADNc

ADN genomic

Restricție enzimatică

Transformare genetică

Clonare *in vivo*

Clonare *in vitro*

PCR

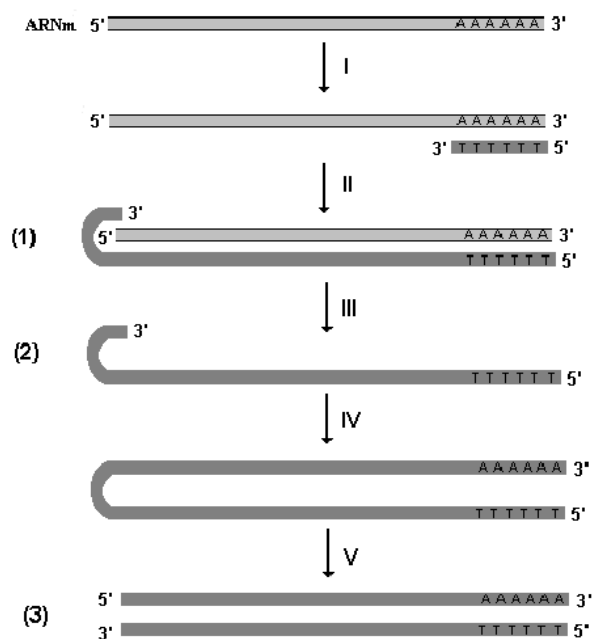
Primer artificial

Taq-polimerază

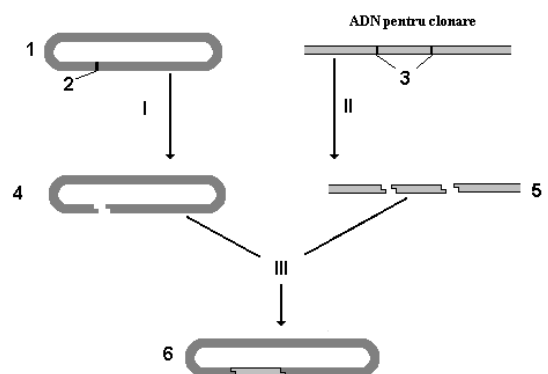
Testare genetică

2. Enumerați etapele izolării ADN genomic din celulele sângelui periferic

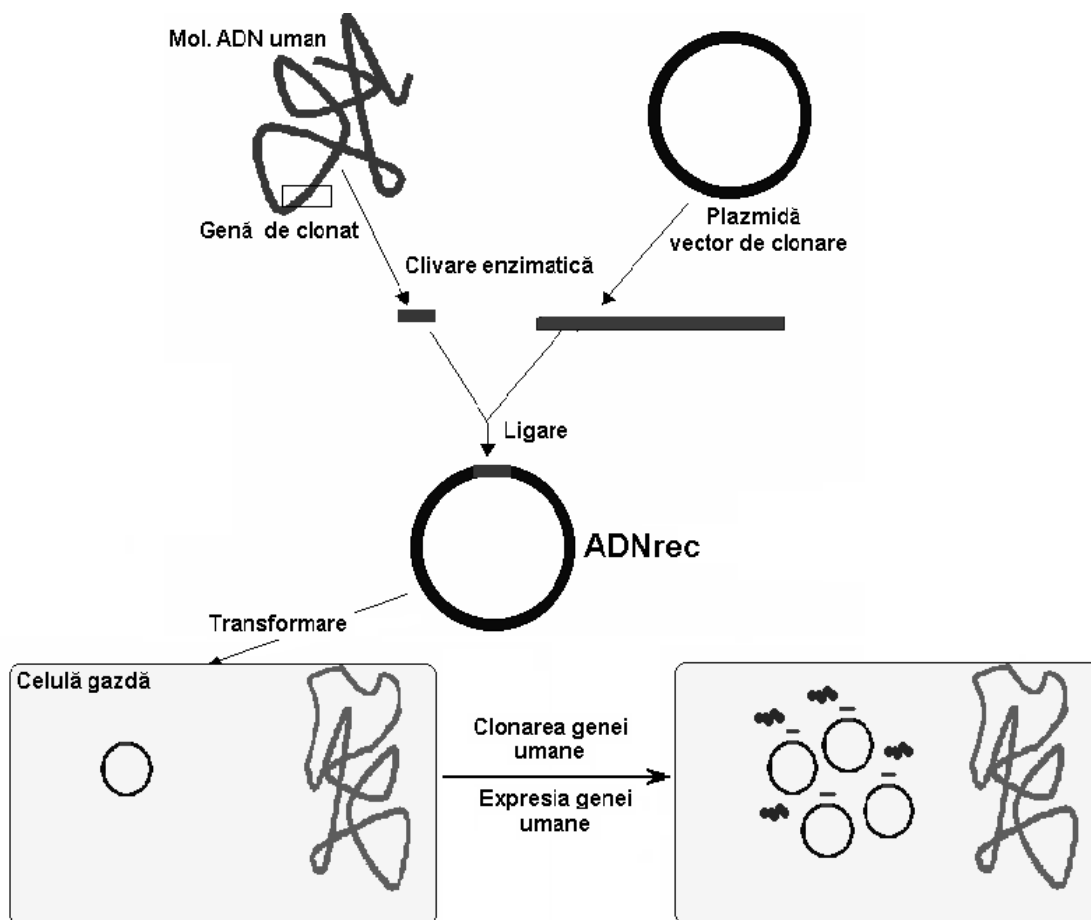
3. Completați legenda figurii:



4. Completați legenda figurii „Obținerea ADN-rec”:



5. Analizați figura și caracterizați etapele principale ale tehnologiei ADN-rec:



Etapele tehnicii	Caracteristica	Scopul
Izolarea ADN genomic		
Selectarea vectorului de clonare		
Clivarea ADN genomic		
Clivarea vectorului de clonare		
Ligarea		
Transformarea celulei gazdă		
Clonarea genei umane		
Expresia genei umane		
Selectia celulelor transformate		
Izolarea ADN-rec		
Izolarea produsului genic		

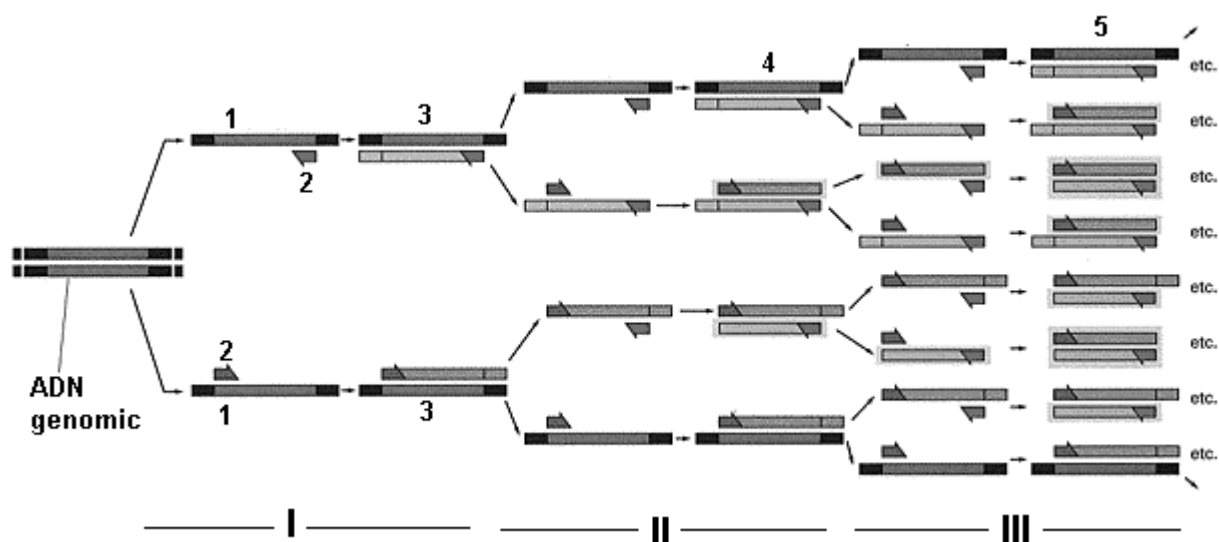
8. Completați tabelul: „Elemente necesare pentru analiza RFLPs”

	Caracteristica
Enzimă de restricție	
Situs de restricție	
Fragment de restricție	
Polimorfism al lungimii fragmentelor de restricție	
Hartă de restricție	

9. Completați tabelul: „Analiza comparativă a clonării *in vivo* și *in vitro*”

	Clonarea <i>in vivo</i>	Clonarea <i>in vitro</i>
ADN clonat		
Etapele clonării		
ADN-polimeraza		
Primeri		
Vectori de clonare		
Locul desfășurării		

10. Completați legenda figurii:



1. _____
2. _____
3. _____
4. _____
5. _____

- I _____
- II _____
- III _____

11. Completați tabelul: „Caracteristica vectorilor de clonare”

	Caracteristica
Tipuri de vectori	
Particularități de organizare	
Particularități de replicare	
Specificitate de fragmentul clonat	
Specificitate de gazda	

Finalități:

1. Înțelegerea principiilor ingineriei genetice.
2. Cunoașterea principiilor de obținere a ADN-recombinant;
3. Să știți rolul biologic și practic al restrictazelor.
4. Înțelegerea particularităților de clonare *in vivo* și *in vitro* a genelor umane.
5. Cunoașterea rolului practic al tehnologiei ADN-recombinant..

Formulați 5 întrebări ce se referă la vectorii de clonare.

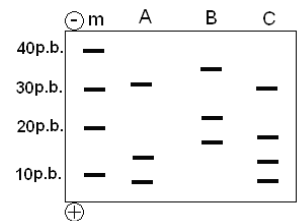
1. _____
2. _____
3. _____
4. _____
5. _____

Test pentru autoevaluare:

1. Care celule pot fi utilizate pentru analiza ADN?
 - a. fibroblaști;
 - b. celule epiteliale
 - c. leucocite
 - d. eritrocite
 - e. limfocite
2. Transformarea genetică reprezintă:
 - a. introducerea fragmentului de ADN țintă într-un vector
 - b. introducerea unui vector recombinant în celula gazdă
 - c. obținerea unei catene de ADNc pe baza unei catene matriță de ARNm
 - d. extragerea unei moleculei de ADN din celulă
 - e. digestia fragmentului de ADN de interes cu enzime de restricție
3. Taq-polimeraza este:
 - a. de origine bacteriană
 - b. de origine virală
 - c. de origine umană
 - d. termostabilă
 - e. termolabilă
4. Tipurile de hibridare a acizilor nucleici pot fi:
 - a. ADN-ADN
 - b. ADN- proteine
 - c. ARN-ARN
 - d. ADN-ARN
 - e. ARN-proteine
5. Care dintre următoarele afirmații sunt caracteristice enzimelor de restricție:
 - a. recunosc secvențe specifice
 - b. sunt exonucleaze
 - c. clivează ambele catene ale moleculei de ADN
 - d. o enzimă de restricție recunoaște diferite situsuri de restricție
 - e. sunt endonucleaze
6. Care aparate sunt necesare pentru a realiza molecule de ADN recombinat:
 - a. Ultrasonograf;
 - b. Centrifugă;
 - c. Pipetă pentru dozare (până la 1000 μl);
 - d. Transiluminator
 - e. Instalație pentru electroforeză
7. Reverstranscriptaza este:
 - a. ADN-polimerază ADN dependentă
 - b. ARN-polimerază ADN-dependentă
 - c. ADN-polimerază ARN-dependentă
 - d. ARN-polimerază ARN-dependentă
8. În calitate de vectori de clonare se utilizează:
 - a. plasmide
 - b. cromozomi artificiali bacterieni (BAC)
 - c. bacteriofagi
 - d. proteine de transport
 - e. cromozomi artificiali ai drojdiilor (YAC)

9. Etape ale clonării *in vitro* sunt:
- denaturarea termică a ADN la temperatura de $\sim 96^{\circ}\text{C}$
 - denaturarea termică a ADN la temperatura de $\sim 72^{\circ}\text{C}$
 - denaturarea chimică a ADN
 - legarea primerilor la temperatura de $\sim 50^{\circ}\text{C}$
 - elongarea fragmentelor complementare la temperatura de $\sim 72^{\circ}\text{C}$
10. Reagenți necesari pentru a realiza molecule de ADN recombinat pot fi:
- Primaza
 - Enzime de restricție
 - Enzime topoizomeraze
 - Ligaza
 - γ -globuline
11. Componente necesare clonării ADN *in vivo* sunt:
- fragmentul de ADN țintă
 - vectorul de clonare
 - gazda de clonare
 - nucleotide
 - enzime ale aparatului de replicare

12. Determinați numărul și lungimea fragmentelor de restricție, obținute cu ajutorul HpaI care produce capete neadezive. Selectați schema electroforezei corespunzătoare fragmentelor obținute (m – marker al lungimii).



a) Situsul de restricție: GTTAAC
CAATTG

b) Secvența de ADN:

5' - AACATACGATCGTTAACCTTTACCCAGGGATACAGGGAAATAGGTAACTTT - 3'
3' - TTGTATGCTAGCAATTGGAAATGGGTCCCTATGTCCCTTTATCCAATTGAAA - 5'

Numărul de fragmente: _____

Lungimea fragmentelor: _____

c) Selectați varianta corectă a rezultatelor electroforezei fragmentelor de ADN obținute: ___

LUCRAREA PRACTICĂ Nr. 14

TEHNICI DE ANALIZĂ A GENELOR

Tehnicile de analiză a genelor includ o serie de proceduri, bazate pe particularitățile fizico-chimice a moleculelor de ADN, ARN sau proteinelor, care au ca scop elucidarea directă sau indirectă a structurii sau funcției unei gene / unei secvențe specifice de ADN. ADN-ul se caracterizează printr-un polimorfism extrem de variat interspecific, interpopulațional și intrapopulațional, deține particularități genetice individuale. Polimorfismul ADN-ului este determinat de modificări nucleotidice în secvențele genice sau extragenice, codificatoare și necodificatoare și poate fi calitativ sau cantitativ, normal sau patologic. În ultimul caz schimbările secvenței nucleotidice produc stări patologice – boli genetice sau predispoziție la boli. În dependență de scopul studiului genelor – cercetare sau testare, în dependență de cunoștințele despre gena evaluată și altele, se utilizează diferite tehnici de analiză:

- tehnici de studiu a ADN-ului, obținut din orice celulă a organismului;
- tehnici de studiu a ARNm – produs al unei gene, extras din citoplasma celulelor unde se expresează gena cercetată;
- tehnici de analiză a proteinei – produs primar al genei studiate.

Structura primară a genei se analizează prin diferite tehnici de secvențiere (pe cale chimică, enzimatică sau automatizată). Prezența sau absența unei secvențe nucleotidice specifice ce caracterizează o genă se stabilește pe baza tehnicilor de hibridizare (*blotting*-hibridizare, hibridizare *in situ*). Foarte răspândită este tehnica PCR și variantele sale, care utilizând primeri specifici amplifică gena normale sau mutante facilitând determinarea rapidă și precisă a purtătorilor de gene mutante în scop de diagnostic prenatal și postnatal presimptomatic al bolilor genetice.

Una dintre aplicațiile tehnicilor de analiză a genelor este dactiloscopia genomică, analiza polimorfismului individual în scopul identificării persoanelor, utilizată în medicina legală și criminalistică.

Ținând cont de polimorfismul interspecific al ADN-ului sau elaborat și teste de identificare a ADN-ului străin în organismul uman – diagnosticul precis al infecțiilor, cum ar fi hepatitele virale, SIDA, hlamidiozele, etc. Aceste teste permit identificarea nu numai a ADN-ului străin în organismul uman dar și gradul de infectare, efectul tratamentului.

Subiecte pentru discuție :

1. Aplicațiile practice ale tehnicilor de analiză a genelor.
2. Tehnici de analiză a ADN-ului.
3. Tehnici de analiză a ARNm.
4. Izolarea ADN-ului genomic și ARNm din celulele umane.
5. Obținerea fragmentelor de ADN de cercetat.
6. Metodele de vizualizare a ADN-ului.
7. Caracteristica sondelor moleculare.
8. Principiile, etapele și aplicațiile practice ale tehnicilor PCR, Southern-blot și secvențiere enzimatică.

1. Definiți noțiunile:

Polimorfism ADN

Heterogenitate ADN

ADN genomic

Fragment de restricție

Primer artificial

ddNTP

Secvențiere

Hibridizare ADN

Amplificare ADN

Sondă moleculară marcată

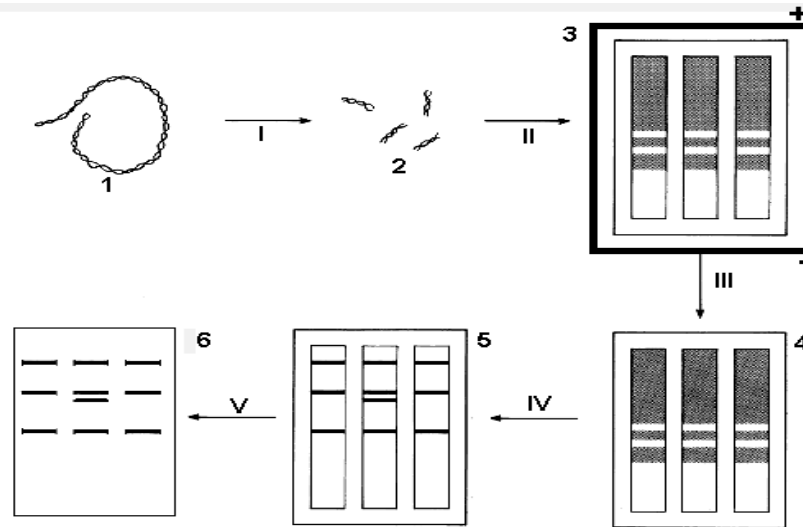
FISH**2. Completați tabelul: „Tehnici de analiză a genelor”**

Tehnici de analiză a genei	Ținta analizei	Scopul analizei
PCR		
RT-PCR		
Secvențierea ADN		
Secvențierea polipeptidului		
Southern-blot		
Northern-blot		
Western-blot		
FISH		

3. Completați tabelul: „Utilizarea tehnicilor de analiză a genelor”

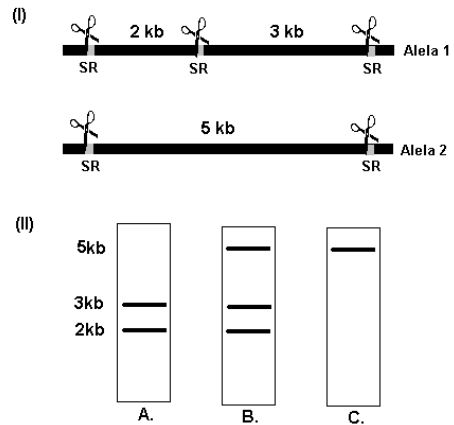
Proceduri de laborator	Principii generale	Pentru care din tehnici este necesară procedura
Izolarea ADN genomic pentru analiza unei gene umane		
Izolarea ARNm specific unei gene umane		
Obținerea fragmentelor de restricție		
Obținerea ADNc		
Separarea fragmentelor de ADN dintr-un amestec de fragmente		
Aprecierea lungimii fragmentului de interes		
Analiza comparativă a ADN la diferite persoane		
Vizualizarea fragmentelor de restricție		
Vizualizarea produșilor PCR		
Vizualizarea unei secvențe de ADN <i>in situ</i>		
Depistarea ADN-ului străin		
Clonarea unei gene umane <i>in vivo</i>		
Clonarea unei gene umane <i>in vitro</i>		
Denaturarea ADN <i>in vitro</i>		
Hibridizarea ADN <i>in vitro</i> și <i>in situ</i>		

4. Completați legenda figurii „Etapete analizei Southern-blot”



5. Determinați genotipurile subiecților A, B și C conform rezultatelor electroforezei (II).

1. homozigot 1/1 _____
2. homozigot 2/2 _____
3. heterozigot 1/2 _____



6. A fost realizată secvențierea enzimatică propusă de Sanger. Rezultatele sunt prezentate pe pelicula obținută după autoradiografia gelului de agaroză. Am analizat rezultatele și am identificat produșii a celor patru serii de reacții:

A) Rezultatele electroforezei

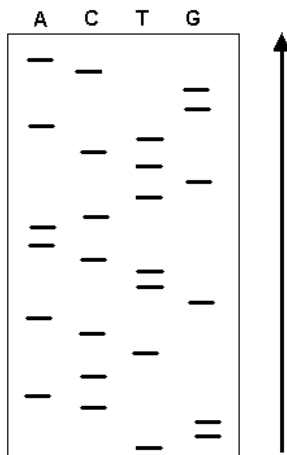


B) Secvențele de ADN obținute în timpul reacțiilor

- cu ddATP 5'-ATTACA-3'
5'-ATTACAA-3'
5'-ATTACAAGA-3'
5'-ATTACAAGATTA-3'
5'-ATTACAAGATTACCA-3'
- cu ddTTP 5'-ATTACAAGAT-3'
5'-ATTACAAGATT-3'
5'-ATTACAAGATTACCAT-3'
5'-ATTACAAGATTACCATGT-3'
- cu ddGTP 5'-ATTACAAG-3'
5'-ATTACAAGATTACCATG-3'
- cu ddCTP 5'-ATTAC-3'
5'-ATTACAAGATTAC-3'
5'-ATTACAAGATTACC-3'

Analizați rezultatele evidențiate mai sus și răspundeți la următoarele întrebări:

- Care este secvența nucleotidică a fragmentului de genă analizat?
- Care este matricea utilizată în aceste reacții?
- Care este primerul utilizat?
- Care a fost direcția electroforezei? (indicați direct pe schemă)
- Care coloană din schema electroforezei corespunde cu produșii reacției din schema din dreapta?
- Subliniați ddNTP ce au caracterizat cele patru reacții.

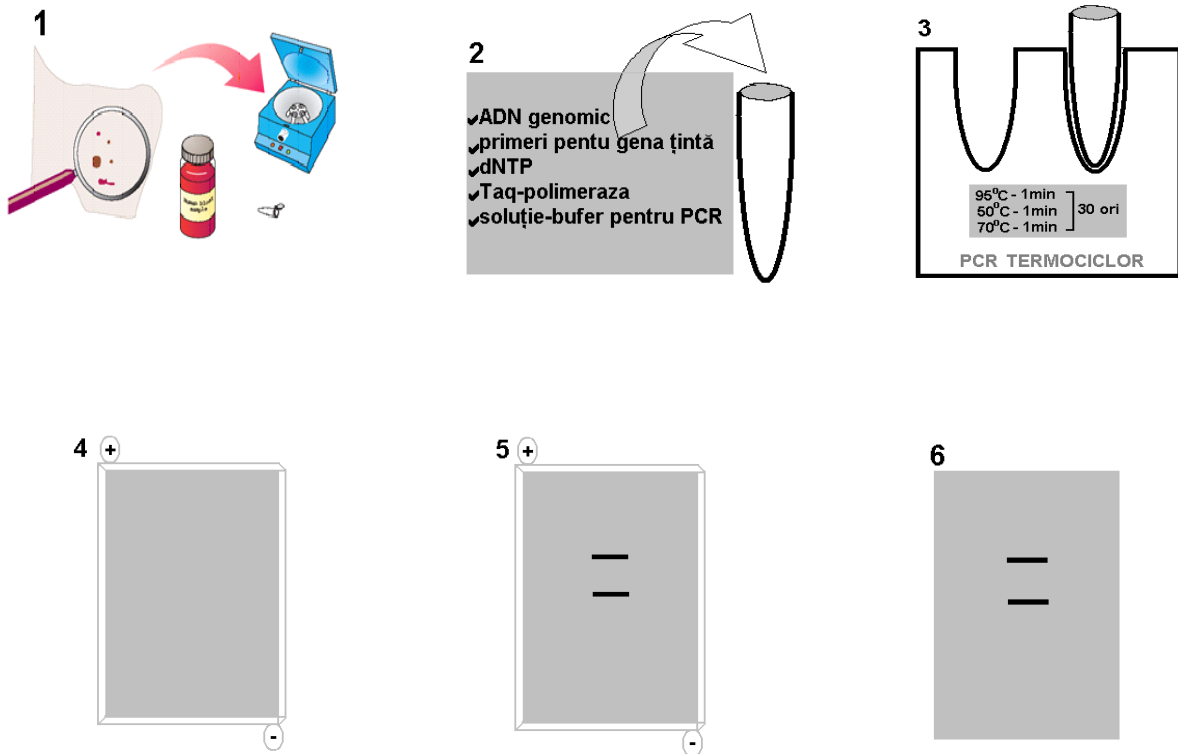


7. Determinați secvența nucleotidică după rezultatele electroforezei (săgeata indică direcția electroforezei. Indicați capetele secvenței obținute 5' și 3'.

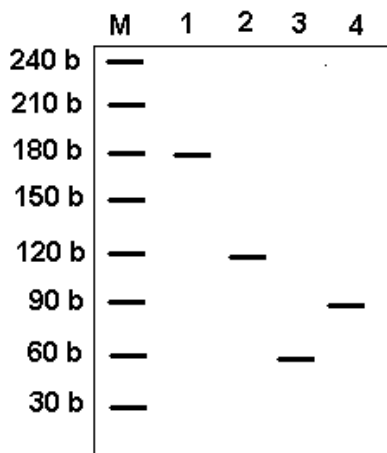
Tehnica utilizată este.....

Fragmentele de ADN din coloana A sunt:

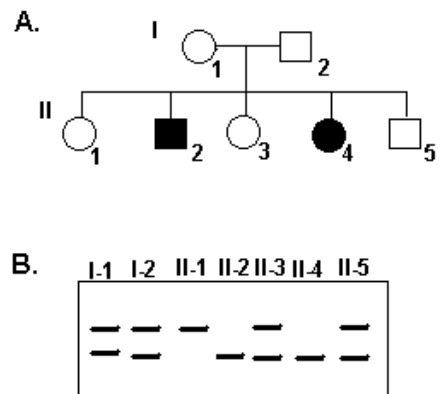
8. Analizați schema PCR. Indicați etapele PCR:



9. Determinați numărul de repetări trinucleotidice (GGC)_n în secvența de ADN la persoanele 1,2, 3 și 4 conform rezultatelor electroforezei produșilor PCR.



10. Determinați genotipurile persoanelor din arborele genealogic cu două persoane afectate cu FCU - boală autosomal recesivă conform rezultatelor electroforezei produșilor PCR (B).



11. Completați tabelul: „Aplicațiile tehnicilor de analiză a genelor”

Aplicațiile tehnicilor de studiu a genelor	Metode utilizate	Rol practic
Determinarea structurii primare a ADN-ului genic		
Depistarea mutațiilor genice		
Construirea hărților de restricție		
Determinarea genotipului persoanei		
Identificarea markerilor mini-și microsatelitici		
Analiza expresiei genei		
Depistarea ADN-ului viral		
Dactiloscopia genomică		

12. Completați tabelul: „Caracteristica generală a principalelor tehnici de analiză a genelor”

	PCR	Secvențiere enzimatică	Southern-blot
Definiție			
Principiile pe care se bazează			
Etapele principale			
Componenți pentru reacție specifici			
Componenți pentru reacție generali			
Modul de interpretare a rezultatelor			
Aplicații practice			

Finalități:

1. Înțelegerea rolului tehnicilor de studiu a genelor în practica viitorului medic.
2. Cunoașterea particularităților de manipulare a acizilor nucleici.
3. Să știți principiile, etapele și aplicațiile practice ale tehnicii PCR.
4. Să știți principiile, etapele și aplicațiile practice ale tehnicii Southern-blot.
5. Să știți principiile, etapele și aplicațiile practice ale tehnicii dideoxi de secvențiere a ADN.

Formulați 5 concluzii ce se referă la aplicațiile practice ale PCR.

1. _____
2. _____
3. _____
4. _____
5. _____

RECAPITULARE

1. Scrieți denumirea completă a componentelor celulare și găsiți semnificația lor biologică.

	Descifrați	Rol biologic
A		
ADN		
ADNc		
ADNmt		
ADNrec		
Ala		
AMP		
Arg		
Arg-ARNt		
ARN		
ARN 16S		
ARN 18S		
ARN 45S		
ARNh		
ARNm		
ARNr		
ARNsc		
ARNsn		
ARNt		
Pro-ARN		
Asn		
Asp		
ATP		
Bucla D		
Bucla ψ		
C		

CAP		
Cis		
CMP		
CTP		
dAMP		
dATP		
dCMP		
dCTP		
dGMP		
dGTP		
dNMP		
DNP		
dNTP		
dTMP		
dTTP		
eEF		
eIF		
ER		
FR		
G		
Gln		
Glu		
Gly		
GMP		
GTP		
His		
Ile		
Leu		

Lys		
Met		
Met-ARNt		
NTP		
Phe		
Poly(A)		
Pro		
RNP		
Situs A		
Situs P		
Situs R		
Situs T		
SR		
T		
TAFs		
TF II A, B		
TF III A, B ...		
Trp		
Tyr		
U		
U1		
U2		
U5		
UMP		
UTP		
Val		

2. Analizați atent cunoștințele voastre și asociați descrierile din prima coloană cu un proces molecular sau componentă celulară corespunzătoare.

	Rolul biologic	Componenta celulară / proces molecular
1.	Conține IG despre sinteza proteinelor	
2.	Conține IG despre sinteza ARNr 18S	
3.	Conține IG despre sinteza ARNr 28S	
4.	Conține IG despre sinteza ARNr 5,8S	
5.	Conține IG despre sinteza ARNr 5S	
6.	Conține IG despre sinteza ARNt	
7.	Copie IG despre sinteza proteinelor	
8.	Copie IG despre sinteza ARNr 18S, 28S și 5,8S	
9.	Copie IG despre sinteza ARNr 5S	
10.	Copie IG despre sinteza ARNt	
11.	Asigură maturizarea ARNm	
12.	Reprezintă sediul biosintezei proteinelor	
13.	Transferă IG din nucleu în citoplasmă	
14.	Transferă aminoacizii spre ribosomi	
15.	Translează codul genetic	
16.	Sunt complementari codonilor ARNm	
17.	Formează legături peptidice între aminoacizii	
18.	Controlează conformația proteinelor	
19.	Asigură digestia proteinelor denaturare, proteinelor străine	
20.	Asigură sinteza lipidelor membranare	
21.	Determină digestia lipidelor în exces	
22.	Asigură sinteza catenelor noi de ADN în timpul replicării și reparației	
23.	Ajută la procesul de replicare	
24.	Ajută la procesul de reparație	
25.	Sunt monomeri în timpul replicării	
26.	Sunt monomeri în timpul reparației	
27.	Sunt monomeri în timpul transcripției	

28.	Sunt monomeri în timpul translației	
29.	Determină dublarea materialului genetic	
30.	Determină compactizarea materialului genetic	
31.	Asigură transmiterea exactă a IG de la celulă la celulă	
32.	Asigură realizarea IG și formarea caracterelor	
33.	Previne acumularea mutațiilor și păstrarea IG din generație în generație	
34.	Asigură formarea celulelor haploide pentru înmulțirea sexuată	
35.	Asigură recombinarea intracromozomială și variabilitatea gameților	
36.	Asigură recombinarea intercromozomială și variabilitatea gameților	
37.	Asigură recombinarea genomică și variabilitatea intrafamilială	
38.	Asigură eliminarea celulelor senescente, transformate sau în exces	
39.	Asigură detoxifierea xenobioticilor	
40.	Asigură neutralizarea metaboliților celulari	
41.	Asigură individualitatea celulelor	
42.	Asigură separarea mediilor cu funcție diferită a celulei	
43.	Asigură sinteza ATP	
44.	Controlează desfășurarea ciclului celular	
45.	Repartizează cromozomii la poli celulei	
46.	Transportă glucoza din sânge în celule	
47.	Controlează depozitarea glucozei sub formă de glicogen	
48.	Transportă ioni	
49.	Transportă proteinele de la RE la AG	
50.	Transportă proteinele din exteriorul celulei în interior	
51.	Controlează pH celular	
52.	Recunoaște moleculele extrinseci	
53.	Interacționează cu ligandul, declasând un lanț de semnalizare	
54.	Au funcție antigenică	
55.	Au funcții de anticorpi	
56.	Fagocitează corpii apoptotici	
57.	Fragmentează ADN internucleosomal în timpul apoptozei	

58.	Reprezintă proteine nucleare bazice	
59.	Reprezintă proteine nucleare acide	
60.	Controlează integritatea cromozomilor și replicarea completă a ADN	
61.	Unește cromatidele surori și controlează segregarea corectă a MG	
62.	Interacționează cu fusul acromatic	
63.	Determină formarea fusului acromatic	
64.	Determină formarea bivalenților	
65.	Are loc clivarea longitudinală a centromerilor	
66.	Are loc disjuncția cromozomială	
67.	Are loc disjuncția cromatidiană	
68.	Blocarea proceselor transcripționale, dispariția nucleolilor	
69.	Activarea proceselor transcripționale, apariția nucleolilor	
70.	Controlează biogeneza ribosomilor	
71.	Controlează biogeneza lizosomilor	
72.	Fixează cromatina de anvelopa nuclează	
73.	Formarea plăcii metafazice cu 46 de crs BC	
74.	Formarea plăcii metafazice cu 23 bivalenți	
75.	Formarea plăcii metafazice cu 23 crs BC	
76.	Formarea plăcii metafazice cu 23 de tetrade	
77.	Controlează sinteza catalazei	
78.	Controlează sinteza tubulinei	
79.	Controlează sinteza hemoglobinei	
80.	Protejează capătul 5' al ARNm și este recunoscut de ribosomi	
81.	Protejează capătul 3' al ARNm și este recunoscut de porii nucleari	
82.	Sunt identificați și eliminați de către spliceosom	
83.	Sunt componente ale primosomului și asigură inițierea replicării	
84.	Sunt componente ale lizosomilor și asigură hidroliza substanțelor organice	
85.	Sunt componente moleculare ale eucromatinei	
86.	Sunt componente ale replisomului și asigură desfășurarea replicării.	

87.	Sunt componente ale peroxisomilor și asigură neutralizarea metaboliților cel	
88.	Sunt componente ale plasmalemei și asigură endocitoza colesterolului	
89.	Sunt componente ale RE și asigură fixarea ribosomilor	
90.	Sunt componente ale monomerilor ADN	
91.	Sunt componente ale monomerilor ARN	
92.	Sunt componente ale monomerilor proteinelor	
93.	Sunt componente moleculare ale plasmalemei	
94.	Sunt componente moleculare ale RE n	
95.	Sunt componente moleculare ale RE g	
96.	Sunt componente moleculare ale peroxisomilor	
97.	Sunt componente moleculare ale lizosomilor	
98.	Sunt componente moleculare ale citoscheletului	
99.	Sunt componente moleculare ale microtubulilor	
100.	Sunt componente moleculare ale centriolilor	

3. Definiți noțiunile de bază din cursul de Biologie moleculară

Noțiuni	Caracteristică scurtă	Rol biologic
ADN		
ADN nuclear		
ADN mitocondrial		
ADN genomic		
ADNc		
ADNrec		
ARN		
ARNm		
ARNr		

ARNt		
ARNsn		
Histonă		
Non-histonă		
Nucleosom		
Solenoid		
Centromer		
Telomer		
Cromatidă		
Cromatină		
Cromozom		
Perioadă G1		
Perioadă S		
Perioada G2		
Mitiza		
Meioza		
Celulă somatică		
Gamet		
Zigot		
Replicare		

Reparație		
Transcripție		
Translație		
<i>Splicing</i>		
Polimerază		
Peptidil-transferază		
NTP		
dNTP		
Aminoacizi		
Receptor		
Desmosom		
Endosom		
Hidrolază		
Protează		
Lipază		
Nuclează		
Glicozilază		
Glicoliază		
Catalază		
Chaperoni		

Riboforine		
ATP-sintetază		
Spliceosom		
Primosom		
Replisom		
Ribosom		
Tubulină		
Actină		
Xenobiotic		
Bivalent		
<i>Crossing-over</i>		
Fecundație		
Polimorfism genetic		
Genă		
Intron		
Exon		

BIBLIOGRAFIE RECOMANDATĂ

A. Obligatorie:

1. Curs de biologie moleculară. Cemortan I., Capcelea S., Țaranov L., Amoșii D., 2000
2. Culegere de teste la Biologia moleculară și Genetică umană. Țaranov L. Cherdivarenco N., Capcelea S. Perciuleac L. Terehov V. Rotaru L. Platon E. Cemortan I. 2003
3. Biologia moleculară. Elaborări metodice / Молекулярная биология. Методические указания / Molecular biology. Exercise book Capcelea S., Perciuleac L., Cemortan I, 2021
4. Materialele prelegerilor publicate pe site-ul www.biologiemoleculara.usmf.md
5. Suport de curs la biologia moleculară publicat pe site-ul www.biologiemoleculara.usmf.md
6. e.usmf.md
7. Centrul Național de Informații în Biotehnologie. www.ncbi.nih.gov

B. Suplimentară:

1. Informații despre proiectul Genomul uman. www.ornl.gov
2. Cărți gratuite on-line www.freebooks4doctors.com
3. Reviste științifice on-line www.pubmed.com
4. Reviste științifice on-line www.freemedicaljournals.com
5. www.nature.com
6. www.genome.org
7. <http://www.genecards.org/>
8. Cell biology Pollard Th., Earnshaw W., 2017
9. Molecular Biology of the Cell. B. Alberts 2016
10. Genes B. Lewin, 2017
11. Biologie moléculaire en biologie clinique V.2. M. Bogart 2005

Adrese electronice

Site-urile Catedrei Biologie moleculară și Genetică umană.



www.biologiemoleculara.usmf.md,



<http://e.usmf.md>

Cursul de Biologie moleculară

1. Caracteristica obiectului Biologie moleculară.

Obiectul de studiu al Biologiei moleculare. Scopul și sarcinile Biologiei moleculare. Importanța Biologiei moleculare pentru medicină.

2. Sisteme biologice

Proprietățile sistemelor biologice. Nivelurile de organizare ale sistemelor biologice. Celula – unitatea structural-funcțională a viului. Forme acelulare de viață: prionii, virusurile. Caracteristica comparativă a celulelor procariote și eucariote. Componenții principali ai celulelor: compoziția chimică și compartimentarea. Citosolul și citoscheletul. Metodele de studiu ale celulelor. Tehnica microscopiei fotonice.

3. Macromoleculele. Interacțiunile și funcțiile lor în sistemele biologice.

Proteinele simple și complexe. Localizarea în celulă. Funcțiile biologice. Activarea și inactivarea proteinelor. Hidrații de carbon. Funcțiile de depozitare și semnalizare. Lipidele. Fosfolipidele. Colesterolul. Acizii nucleici: ADN și ARN. Structura, nivelurile de organizare, flexibilitatea ADN. Heterogenitatea ADN. Particularitățile organizării ADN-ului la procariote și eucariote. ADN mitocondrial. Tipurile de ARN. Funcția diferitelor tipuri de ARN.

4. Membranele biologice.

Structura elementară a membranelor. Plasmalema. Funcțiile: de delimitare, de transport, de semnalizare, de reglare a potențialelor bioelectrice, receptoare. Membranele intracelulare. Originea și evoluția membranelor. Particularitățile anvelopei nucleare.

5. Compartimentarea celulei eucariote.

Reticulul endoplasmatic. Tipurile RE. Organizarea moleculară. Funcțiile în celulă. Aparatul Golgi. Structura, originea și evoluția. Funcțiile AG. Lizosomii, peroxisomii. Originea lor. Funcțiile principale. Mitocondriile. Organizarea moleculară. Funcții. Aspectele patologice ale anomaliilor organelor celulare.

6. Celula procariotă.

Caracteristica generală și importanța cunoașterii particularităților procariotelor. Structura generală a bacteriilor. Membrana celulară: structura și particularitățile. Aparatul genetic al bacteriilor: nucleoidul și plasmidele. Ciclul vital al bacteriilor. Importanța biologică a bacteriilor.

7. Nucleul.

Structura nucleului. Funcțiile lui. Cromatina: eucromatina și heterocromatine. Organizarea moleculară. Proteine histonice și nonhistonice – rolul lor. Nivelurile de compactizare ale cromozomilor. Nucleolul. Organizarea moleculară și funcțiile. Etapele biogenezei ribosomilor.

8. Replicarea ADN-ului.

Etapele replicării. Aparatul de replicare. Particularitățile replicării la procariote. Replicarea ADN eucariotic. Topografia replicării. Sinteza telomerilor. Replicarea ADN-ului mitocondrial.

9. Reparația ADN.

Repararea ADN-ului. Repararea prereplicativă și postreplicativă. Repararea recombinativă. Repararea SOS. Metilarea ADN și rolul biologic al metilării.

10. Structura și funcțiile genelor.

Gena – unitatea structurală de păstrare a informației. Structura genelor la procariote. Structura genelor la eucariote. Organizarea mozaică a genelor. Genele mitocondriale. Secvențe reglatoare, modulatorie. Elemente genetice migratoare.

11. Transcripția informației genetice.

Etapele transcripției. Particularitățile transcripției la procariote. Transcripția la eucariote. Aparatul transcripțional. *Processing*-ul moleculelor de ARN. Transcripția genelor de clasa I, II, și III. *Splicing*-ul moleculelor de ARN. *Splicing*-ul alternativ și rolul lui biologic. *Transsplicing*-ul. Editarea ARN.

12. Reglarea transcripției.

Reglajul pozitiv și negativ al transcripției. Reglarea transcripției la procariote și virusuri. Operonul, funcționarea lui. Reglarea transcripției la eucariote.

13. Translația. Codul genetic.

Translația – biosinteza polipeptidului. Codul genetic. Caracteristica și proprietățile codului genetic. Specificul codului genetic mitocondrial. Etapele și aparatul translației. Ribosomii. Structura, sisturile funcționale. Particularitățile la pro- și eucariote. Particularitățile translației la procariote. Inhibarea procesului de translație la procariote. Particularitățile translației la eucariote.

14. Reglarea expresiei genelor la eucariote.

Nivelurile de reglare a activității genice: pretranscripțional, transcripțional, posttranscripțional, transfer, durata de viață a ARNm, translațional, posttranslațional. Reglarea activității genelor în ontogeneză și specializarea celulară. Bazele moleculare ale diversității proteinelor. Gene unice. Familii și superfamilii de gene.

15. Metodele de analiză a acizilor nucleici.

Tehnicile ADN-recombinant. Enzime de restricție. Hărțile situsurilor de restricție. Vectori de clonare: plasmide, bacteriofagi, BAC, YAC. Izolarea și purificarea ADN și ARN. Obținerea bibliotecilor ADNc și a celor genomice. Analiza secvențelor genelor de interes. Analiza Southern, Northern și Western-blot. Tehnica PCR. Aplicații practice.

16. Ciclul celular.

Perioadele ciclului celular: interfaza și mitoză. Interfaza: periodizarea și succesiunea evenimentelor. Punctele de restricție. Perioada G₀. Mitoză. Dinamica cromozomilor în mitoză. Mecanismele moleculare ale mitozei. Centrul celular, fusul acromatic, kinetocorul. Citochineza. Reglarea ciclului celular. Tipurile de proliferare celulară. Transformarea malignă.

17. Meioza. Gametogeneza.

Perioadele meiozei: diviziunea reduțională și diviziunea ecvațională. Etapele profazei I a meiozei. Importanța fenomenelor caracteristice profazei I. *Crossingover*-ul și importanța lui biologică. Mecanismul molecular. Dinamica cromozomilor în meioză. Importanța biologică a meiozei. Particularitățile gametogenezei la bărbați și femei.

18. Apoptoza.

Apoptoza – moartea programată a celulelor. Mecanismele apoptozei. Importanța biologică a apoptozei. Reglarea apoptozei.

Atestarea studenților la sfârșitul cursului Biologia moleculară

1. Rezultatele evaluării curente (teste, lucrări scrise, răspunsuri orale)
2. Rezultatele totalizărilor (lucrări scrise, teste SIMU)
3. Verificarea competențelor practice (rezolvarea problemelor de situație)
4. Realizarea numărului de ore prevăzut în programul de studii
5. Recuperarea restanțelor conform modului stabilit:
 - a. Dispoziție de la Decanat
 - b. Îndeplinirea activităților practice planificate la LP absentat

Lista competențelor practice

1. Analiza electronogramelor celulelor umane cu identificarea structurilor celulare;
2. Estimarea organizării și funcționării genomului, transcriptomului și proteomului uman;
3. Evaluarea diferitor grupuri de proteine după localizare și funcții, rolul lor medical;
4. Modelarea etapelor expresiei informației genetice;
5. Evaluarea principiilor metodelor de analiză a acizilor nucleici (PCR; Southern-blot, secvențierea ADN) și aplicațiilor practice;
6. Evaluarea dinamicii cromozomilor în mitoză și meioză;
7. Citirea și interpretarea schemelor ce reprezintă structuri celulare sau procese moleculare.
8. Estimarea rolului diferitor elemente studiate în lanțul logic: nivel molecular, nivel celular și implicit la nivel de organism vs deducția lanțului respectiv patologic;
9. Analiza rolului expresiei diferențiate a genelor în funcție de țesut, perioadă ontogenetică, sex și mediu.
10. Argumentarea diferitor situații ce explică atitudinea studentului față de anumite procese normale sau patologice în celula umană.
11. Estimarea rolului replicării în transmiterea IG din generație în generație și rolului reparației ADN-ului în prevenirea mutațiilor patologice.
12. Web activități: identificarea bazelor de date electronice, realizarea unui proiect științific sau portofoliu.

Totalizări la Biologia moleculară

Totalizarea I

Tema: „Organizarea moleculară a celule umane”

Motivații:

- Celula – unitatea elementară structurală, funcțională și patologică a organismului uman
- Acizii nucleici – purtători ai informației despre organizarea și funcționarea celulei
- Proteinele – substratul material al tuturor structurilor, proprietăților, funcțiilor la nivel de celulă, țesut, organism
- Interacțiunile dintre macromolecule – determină integritatea sistemelor biologice și calitatea structural-funcțională a organismului

Totalizarea II

Tema: „Procese moleculare de bază”

Motivații:

- Replicarea asigură dublarea și transmiterea exactă a informației genetice
- Reparația asigură stabilitatea informației genetice
- Transcripția și translația – etape principale ale expresiei informației genetice
- Biosinteza programată a proteinelor în funcție de tipul celular, perioada ontogenetică și factorii de mediu asigură diferențierea celulară, reglarea dezvoltării și adaptarea organismului la condițiile de mediu.

Totalizarea III

Tema: „Transmiterea materialului genetic. Diviziunea celulară”

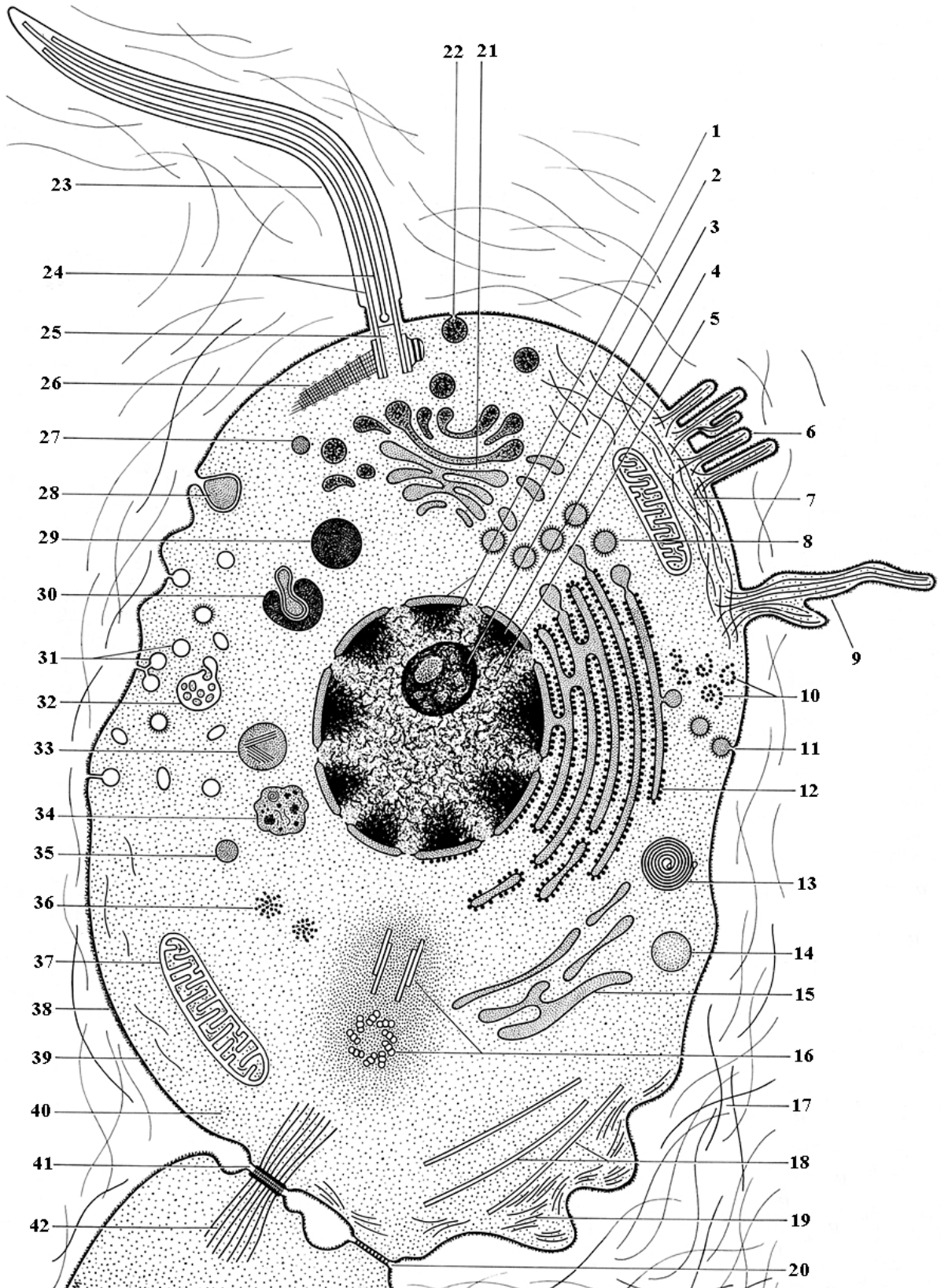
Motivații:

- Mitoza asigură multiplicarea celulelor și transmiterea materialului genetic de la o celulă la alta
- Meioza asigură transmiterea materialului genetic de la o generație la alta
- Meioza asigură recombinarea genetică.

LISTA SUBIECTELOR PENTRU EXAMENUL LA BIOLOGIA MOLECULARĂ

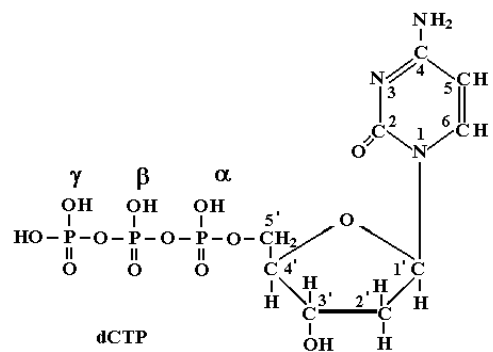
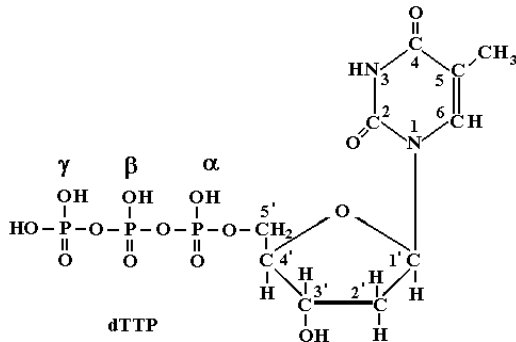
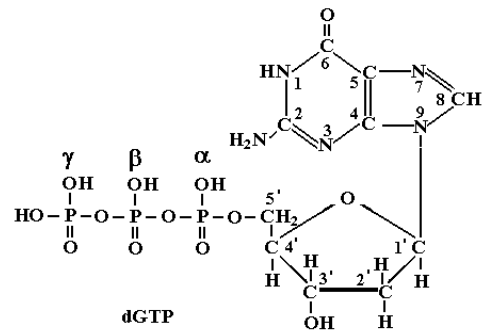
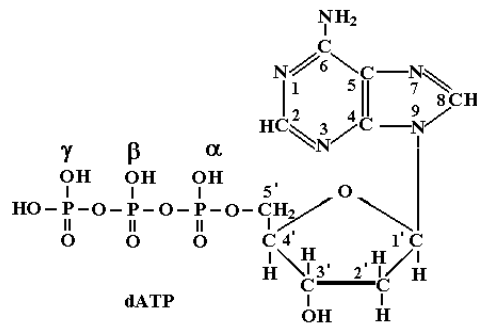
1. Sisteme biologice – caracteristica generală, proprietăți fundamentale
2. Compartimentele principale ale celulei eucariote, caracteristica.
3. Aparatul Golgi și reticulul endoplasmatic - structura, biogeneza, funcțiile.
4. Lizosomii și peroxisomii - structura, biogeneza, funcțiile.
5. Mitocondriile - structura, biogeneza, funcțiile. Aparatul genetic mitocondrial.
6. Centrosomul - structura, biogeneza, funcțiile.
7. Plasmalema - structura, proprietăți, funcții,
8. Membranele celulare - organizarea moleculară, particularități, funcții.
9. Nucleul - structura, funcțiile.
10. Cromatina și cromozomii – organizarea moleculară.
11. Nivelele de compactizare a materialului genetic.
12. Nucleolul - structura, funcțiile.
13. Repere cromozomiale (centromer, telomer, constricții, satelit), caracteristica.
14. Eu- și heterocromatina, caracteristica comparativă – organizare moleculară, activitate genetică, rol genetic.
15. Particularitățile structurii ADN eucariotic, proprietăți, funcții. Heterogenitatea ADN nuclear.
16. Replicarea ADN - definiție, principii generale, etape, aparatul de replicare, rolul biologic.
17. Reparația – definiție, principii generale, tipuri, enzime implicate, rolul biologic.
18. Structura genei la eucariote - secvențele codificatoare, reglatoare, modulatorie. Etapele expresiei genelor.
19. Proprietățile codului genetic.
20. Transcripția genelor structurale – definiție, principii generale, etape, aparatul de transcriere, caracteristica componentelor aparatului transcripțional.
21. Maturizarea ARNm - *processingul*.
22. *Splicingul* și *splicingul* alternativ – caracteristica, rolul biologic.
23. ARNm – particularități structurale și funcționale.
24. Ribosomii – structura, biogeneza, situsuri funcționale.
25. ARNt – structura, situsuri funcționale, funcții.
26. Translația – definiție, principii generale, etape, componentii aparatului de translație și caracteristica lor.
27. Nivelele de reglare a expresiei genelor la eucariote.
28. Studiul acizilor nucleici. Tehnicile ADN-recombinant – etape, rol practic.
29. Clonarea ADN *in vivo* și *in vitro*.
30. Caracteristica și rolul practic al vectorilor de clonare.
31. Enzime de restricție – caracteristica, rolul practic.
32. Ciclul celular. Perioadele ciclului celular și caracteristica lor.
33. Succesiunea evenimentelor interfazei.
34. Mitoza: fazele, caracteristica și rolul ei biologic.
35. Meioza fazele, caracteristica și rolul ei biologic.
36. Recombinarea genetică. *Crossing-overul*, mecanismul molecular.
37. Apoptoza, definiție, importanța biologică.

ANEXE

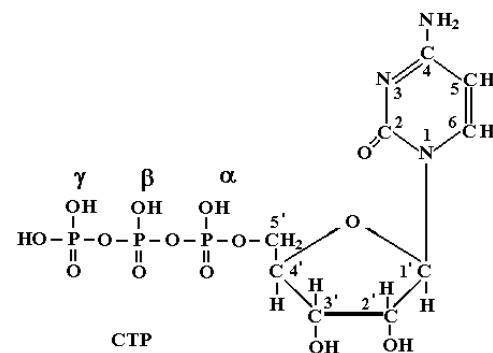
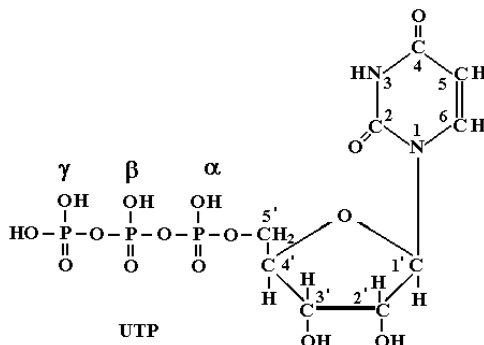
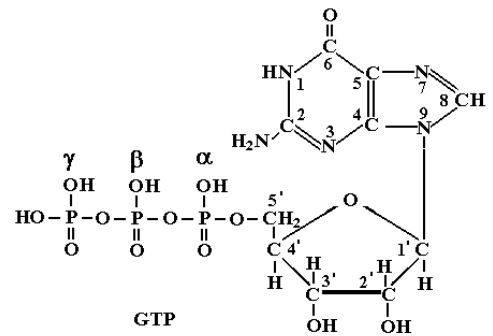
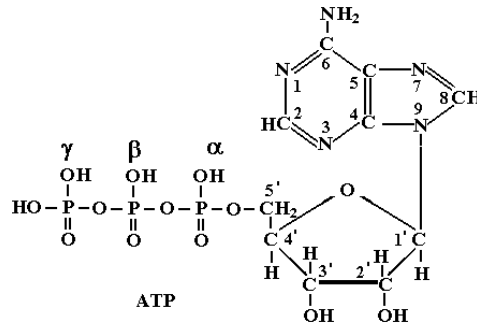


	Denumirea componentei celulare	Funcția majoră
1.	Anvelopa nucleară	- Barieră între nucleu și citoplasmă - Păstrează materialul genetic (MG) nuclear - Asigura compactizarea funcțională a MG nuclear
2.	Porul nuclear	- Reglează exportul de ARN din nucleu în citoplasmă - Reglează importul de proteine din citoplasmă în nucleu
3.	Nucleol	- Regiune a nucleului bogată în ARNr și proteine; - Asigura biogeneza subunităților ribosomale
4.	Heterocromatina	- Reprezintă MG puternic compactizat, inactiv transcriptional; - Conține segmente de ADN codant și necodant.
5.	Eucromatina	- Reprezintă MG slab compactizat, activ transcriptional; - Conține segmente de ADN codant.
6.	Microvili	- Reprezintă organe speciale ale enterocitelor; - Măresc suprafața de absorbție a membranei enterocitelor.
7.	Microfilamente	- Reprezintă componente ale citoscheletului; - Asigura forma celulei, motilitatea celulară.
8.	Endozomi	- Reprezintă formațiuni membranare provizorii; - Asigura transportul proteinelor sintetizate din REr spre AG.
9.	Pseudopode	- Reprezintă formațiuni/ deformări membranare provizorii; - Asigura mișcări ameboidale direcționate, caracteristice leucocitelor.
10.	Ribozomi liberi	- Asigura translația codului genetic cu sinteza unor proteine celulare p/u: nucleu, mitocondrii, citoschelet, peroxizomi și ribozomi
11.	Endozomi	- Reprezintă formațiuni membranare provizorii; - Asigura endocitoza macromoleculilor.
12.	REr	- Reprezintă organit membranar cu ribozomi și asigura sinteza proteinelor p/u: RE, AG, lizozomi, plasmalema și export;
13.	Disc de mielină	- Reprezintă formațiuni membranare multilamelare; - Asigura izolarea electrică a axonilor.
14.	Incluziuni	- Reprezintă formațiuni membranare provizorii; - Asigura depozitarea lipidelor.
15.	REn	- Reprezintă organe membranare canaliculare; - Asigura sinteza lipidelor și detoxifierea xenobioticilor.
16.	Centozomul (2 centrioli)	- Reprezentat de doi cilindri formați din microtubuli - Asigura biogeneza microtubulilor
17.	Colagen	- Reprezintă componenta fibrilară a matricei extracelulare - Asigura rezistența și elasticitatea țesuturilor
18.	Microtubuli	- Reprezintă componente ale citoscheletului; - Asigura structura centrului celular, cililor, flagelilor.
19.	Filamente intermediare	- Reprezintă componente ale citoscheletului; - Asigura forma celulei, motilitatea celulară.
20.	Joncțiune celulară	- Reprezintă formațiuni proteice specifice între celulele vecine; - Asigura unirea celulelor în țesuturi.
21.	REr	- Asigura maturizarea, sortarea și secreția proteinelor sintetizate în REr; - Asigura biogeneza lizozomilor primari.
22.	Endozomi	- Reprezintă formațiuni membranare provizorii; - Asigura secreția macromoleculilor (hormoni, colagen, etc.)
23.	Flagel	- Reprezintă organit specific al spermatozoizilor;
24.		- Asigura deplasarea direcționată.
25.		
26.		
27.	Endozomi	- Reprezintă formațiuni membranare provizorii; - Asigura transportul intracelular al macromoleculilor.
28.	Endozomi	- Reprezintă formațiuni membranare provizorii; - Asigura fagocitoza corpusculilor exogeni.
29.	Lizozomi primari	- Reprezintă organe membranare înfuzate cu hidrolaze; - Asigura digestia macromoleculilor străine, uzate și în exces.
30.	Lizozomi secundari	- Reprezintă organe membranare înfuzate cu hidrolaze ce se contopesc cu corpusculul fagocitat, care urmează a fi digerat;
31.	Endozomi	- Reprezintă formațiuni membranare provizorii; - Asigura pinocitoza.
32.	Incluziuni	- Reprezintă organe membranare provizorii - Asigura depozitarea particulelor endocitate.
33.	Peroxisomi	- Reprezintă organe membranare; - Asigura oxidarea metaboliților toxici și scindarea H ₂ O ₂ .
34.	Lizozomi terțiari	- Reprezintă formațiuni membranare provizorii; - Conține micromolecule rezultate din digestia macromoleculilor.
35.	Endozomi	- Reprezintă formațiuni membranare provizorii; - Asigura transportul intracelular al macromoleculilor.
36.	Incluziuni	- Reprezintă formațiuni provizorii; - Conțin macromolecule – depozit de glucoză.
37.	Mitocondrie	- Reprezintă organe bimerbrante + Aparat genetic propriu - Asigura oxidoreducerea micromoleculilor cu conversia energiei în ATP.
38.	Membrana plasmatică	- Reprezintă bariera dintre mediul intra- și extracelular; Asigura: transportul micro- și macromoleculilor, homeostazia intracelulară, semnalizarea și adeziunea intercelulară.
39.		
40.	Hialoplasma	- Reprezintă substanța semilichidă a citoplasmei – mediul ce asigura metabolismul celulei.
41.	Joncțiune celulară	- Reprezintă formațiuni proteice specifice între celulele vecine;
42.		- Asigura unirea celulelor în țesuturi.

Nucleotidele – monomeri ai acizilor nucleici



Dezoxiribonucleozidtrifosfați – monomeri ai ADN



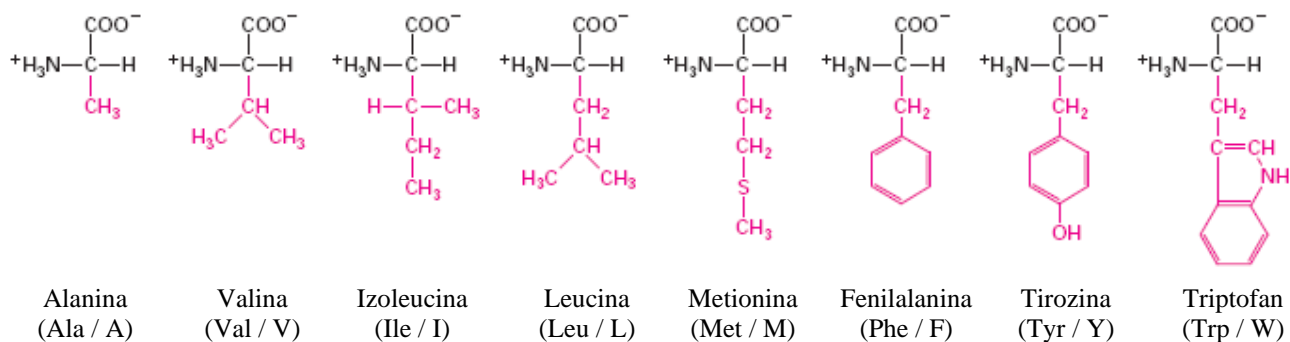
Ribonucleozidtrifosfați – monomeri ai ARN

Nomenclatura bazelor, nucleozidelor și nucleotidelor

Baza	Nucleozid=baza+ glucid		Nucleotid=nucleozid+fosfat		
	Riboza	Dezoxiriboza	Monofosfat	Difosfat	Trifosfat
Purine					
adenina	adenozina		adenozina monofosfat AMP	adenozina difosfat ADP	adenozina trifosfat ATP
		dezoxiadenozina	dezoxiadenozina monofosfat dAMP	dezoxiadenozina difosfat dADP	dezoxiadenozina trifosfat dATP
guanina	guanozina		guanozina monofosfat GMP	guanozina difosfat GDP	guanozina trifosfat GTP
		dezoxiguanozina	dezoxiguanozina monofosfat dGMP	dezoxiguanozina difosfat dGDP	dezoxiguanozina trifosfat dGTP
Pirimidine					
citozina	citidina		citidina monofosfat CMP	citidina difosfat CDP	citidina trifosfat CTP
		dezoxicimidina	dezoxicimidina monofosfat dCMP	dezoxicimidina difosfat dCDP	dezoxicimidina trifosfat dCTP
timina	timidina		timidina monofosfat TMP	timidina difosfat TDP	timidina trifosfat TTP
		dezoxitimidina	dezoxitimidina monofosfat dTMP	dezoxitimidina difosfat dTDP	dezoxitimidina trifosfat dTTP
uracil	uridina		uridina monofosfat UMP	uridina difosfat UDP	uridina trifosfat UTP
		dezoxiuridina	dezoxiuridina monofosfat dUMP	dezoxiuridina difosfat dUDP	dezoxiuridina trifosfat dUTP

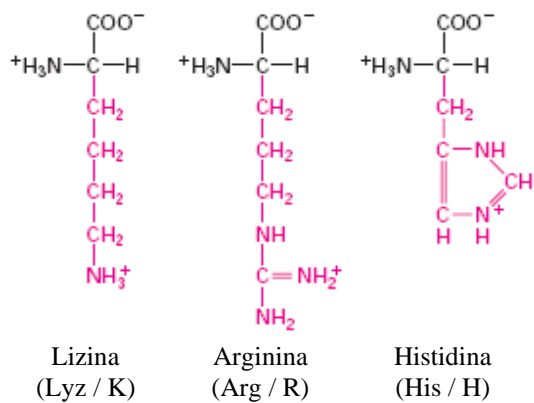
Aminoacizii – monomeri ai proteinelor

Aminoacizi hidrofobi

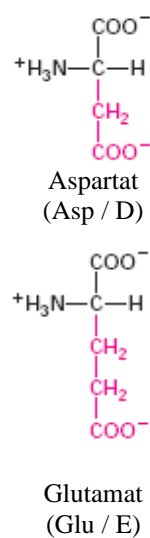


Aminoacizi hidrofilii

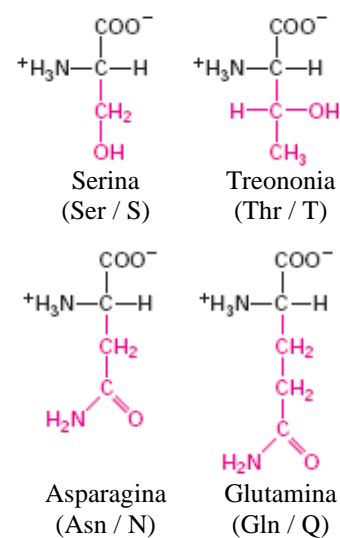
Aminoacizi bazici



Aminoacizi acizi



Aminoacizi cu grupe R neutre



Aminoacizi speciali

