

CUPRINS

C U P R I N S

1. Introducere	3
2. Acizii nucleici în biologia molecular modern	11
2.1. Considera ii generale	11
2.2. Gene, acizi nucleici, geniul genetic	13
2.2.1. Cadrul sinoptic	13
2.2.2. Informa ia biologic i acizii nucleici	16
2.3. Rela ia DNA – filia ie molecular	20
2.3.1. Nivele de filia ie	20
2.3.2. Materia vie i secven ele din DNA	21
3. Genomul i organizarea genic a materiei vii	23
3.1. Considera ii generale	23
3.1.1. Genomul la virusuri	26
3.1.2. Genomul la procariote	28
3.1.3. Genomul la eucariote	30
3.2. Interrela ia genotip – fenotip – mediu	31
3.2.1. Conceptul de genotip	32
3.2.2. Conceptul de fenotip	33
3.2.3. Ac iunea mediului	34
3.2.4. Genele i programul genetic – coordonate generale	35
3.3. Transmiterea informa iei genice	36
3.3.1. Privire general	36
3.3.2. Procesul de replica ie	37
3.3.3. Procesul de transcrip ie	42

BIOLOGIE MOLECULAR : METODE SPECIFICE I APLICA II

3.3.4. Procesul de transla ie	45
3.3.4.1. Specificul transla iei	46
3.3.4.2. Caracteristicile codului genetic	48
3.3.4.3. Aparatul de transla ie	52
3.3.4.4. Activarea aminoacizilor	54
3.3.4.5. Biosinteza proteinelor – stadii	55
3.3.4.6. Energogeneza i reglarea biosintezei proteinelor	60
4. Investigarea acizilor nucleici	63
4.1. Considera ii generale	63
4.2. Metode de determinare a secven elor din molecule de acizi nucleici	65
4.2.1. Privire sinoptic	65
4.2.2. Metoda Maxam-Gilbert	66
4.2.3. Metoda Sanger-Nicklen-Coulsen	67
4.3. Metode de hibridizare a catenelor de acizi nucleici	70
4.3.1. Privire sinoptic	70
4.3.2. Tipuri de hibridizare	70
4.4. Metode de detectarea prin sonde moleculare	72
4.4.1. Privire sinoptic	72
4.4.2. Sonde moleculare radiomarcate	74
4.4.3. Sonde moleculare chimiomarcate	75
4.4.3.1. Sondele moleculare chimiomarcate direct	75
4.4.3.2. Sondele moleculare chimiomarcate indirect	75
4.5. Metode de investigare a fragmentelor moleculare de acizi nucleici	76
4.5.1. Privire sinoptic	76
4.5.2. Metoda Southern	76
4.5.3. Metoda Northern	78
4.6. Metoda amplific rii prin reac ia în lan a polimerazei (PCR)	79
4.6.1. Privire sinoptic	79
4.6.2. Principii metodologice	79

CUPRINS

4.6.2.1. Particularit ile ciclului de amplificare	81
4.6.2.2. Investigarea DNA cu metoda amplific rii prin PCR	83
4.6.3. Aplica ii ale metodei de amplificare prin PCR	84
4.6.3.1. Aplica ii în diagnostic	84
4.6.3.1.1. Aplica ii în eredopatologie	84
4.6.3.1.2. Aplica ii în oncologie	85
4.6.3.1.3. Aplica ii în detectarea infec iilor	85
4.6.3.2. Aplica ii în medicina legal	86
4.6.3.3. Aplica ii în ginecologie	87
4.6.3.4. Aplica ii în cartarea genomului	87
4.7. Metoda evaluarii polimorfismului lungimii fragmentului de restric ie (RFLP)	88
4.7.1. Privire sinoptic	88
4.7.2. Principii metodologice	89
4.7.3. Aplica ii ale metodei de evaluare a RFLP	91
4.7.3.1. Genetica invers	92
4.7.3.2. Amprenta DNA	94
5. Recombinarea genic natural	97
5.1. Considera ii generale	97
5.2. Recombinarea genic la virusuri	98
5.3. Recombinarea genic la procariote	99
5.3.1. Transformarea	100
5.3.2. Conjugarea	103
5.3.3. Sexduc ia	105
5.3.4. Transduc ia	106
5.3.5. Transfec ia	108
5.4. Recombinarea genic la eucariote	109
6. Recombinarea genic mediat biotehlogic	113
6.1. Considera ii generale	113
6.2. Mijloace operatoare pentru DNA recombinant	92

BIOLOGIE MOLECULAR : METODE SPECIFICE I APLICA II

6.2.1. Enzime de restric ie i modifica ie	115
6.2.1.1. Enzime de restric ie	117
6.2.1.2. Enzime de modifica ie	122
6.2.2. Enzime din grupa DNA polimerazelor	122
6.2.2.1. DNA polimeraze – DNA dependente	122
6.2.2.2. DNA polimeraze – RNA dependente	123
6.2.3. Enzime din grupa DNA ligazelor	124
6.3. Strategia ob inerii DNA recombinant	125
6.3.1. Principii generale	125
6.3.2. Conceptul de vector	126
6.3.2.1. Plasmidele	127
6.3.2.2. Bacteriofagii	129
6.3.2.3. Cosmidele	130
6.3.3. Conceptul de pasager	131
6.3.4. Formarea moleculelor de DNA recombinant	133
6.3.5. Clonarea DNA recombinant	135
6.4. Recombinarea genic – sinoptic	137
6.4.1. Transferul genelor cu ajutorul plasmidelor	138
6.4.1.1. Procedeeul de utilizare a DNA genomic	139
6.4.1.2. Procedeeul de utilizare a RNA mesager	140
6.4.2. Transferul genelor cu ajutorul virusurilor	141
7. Aplica ii biotehnologice în domeniile vegetal i animal	143
7.1. Considera ii generale	143
7.2. Aplica ii biotehnologice în domeniul vegetal	144
7.3. Aplica ii biotehnologice în domeniul animal	147
8. Aplica ii biotehnologice în domeniile alimentar i farmaceutic ...	151
8.1. Considera ii generale	151
8.2. Aplica ii biotehnologice în domeniul alimentar	152
8.2.1. Enzime cu atribut de aditivi alimentari	152
8.2.1.1. Enzimele în biochimia general	153
8.2.1.2. Enzimele în biotehnologia alimentar	158

CUPRINS

8.2.2. Ob inerea de aditivi microbiologici enzimatici.....	159
8.2.3. Ob inerea de aditivi biochimici enzimatici	161
8.2.4. Ob inerea de preparate enzimatic prin metode specifice biologiei moleculare.....	162
8.2.5. Investiga ii asupra unor sisteme enzimatic in situ.....	164
8.3. Aplica ii biotehnologice în domeniul farmaceutic	165
8.3.1. Somatostatina	165
8.3.2. Insulina	166
8.3.3. Hormonul somatotrop.....	168
Referin e bibliografice (selective).....	171