

CUPRINS

C U P R I N S

PARTEA I. CONCEPTE ȘI METODE GENERALE	1
1. BIOLOGIA MOLECULAR ÎN STUDIUL MATERIEI VII	3
<i>Zeno Garban</i>	
1.1. Considerații generale	3
1.2. Diversitatea morfofiziologică a materiei vii	5
1.3. Obiectul de studiu al biologiei moleculare. Interdisciplinaritate	7
1.4. Repere istorice generale	9
1.5. Elemente morfofiziologice și topobiochimice specifice virusurilor	13
1.5.1. Privire sinoptic	13
1.5.2. Ultrastructura și topobiochimia virusurilor	14
1.5.2.1. Segmentul capital	16
1.5.2.1.1. Core	17
1.5.2.1.2. Capsida	19
1.5.2.1.3. Peplusul	19
1.5.2.2. Segmentul caudal	20
1.5.2.2.1. Cilindrul axial	20
1.5.2.2.2. Placa bazal	21
1.5.2.2.3. Fibrele caudale	21
1.5.3. Ciclul vital la virusuri	22
1.5.3.1. Ciclul litic	22
1.5.3.2. Ciclul lizogenic	23
1.6. Elemente morfofiziologice și topobiochimice specifice procariotelor	24
1.6.1. Privire sinoptic	24
1.6.2. Ultrastructura și topobiochimia celulelor procariotice	25
1.6.2.1. Nucleoidul	28
1.6.2.2. Citoplasma	29
1.6.2.3. Formațiuni intracelulare	29
1.6.2.3.1. Ribosomi	30
1.6.2.3.2. Mezosomul	31

BIOLOGIE MOLECULAR : CONCEPTE, METODE, APLICA II

1.6.2.3.3. Plasmidele	31
1.6.2.3.4. Granule de depozitare	32
1.6.2.3.5. Vacuole	32
1.6.2.3.6. Aparatul fotosintetizant	33
1.6.2.3.7. Alte forma iuni intracelulare	33
1.6.2.4. Membrana celular	34
1.6.2.5. Flageli, pili, fimbrine	35
1.6.3. Ciclul celular la procariote	36
1.7. Elemente morfofiziologice i topobiochimice specifice eucariotelor ..	36
1.7.1. Privire sinoptic	36
1.7.2. Ultrastructura i topobiochimia celulelor eucariotice	37
1.7.2.1. Nucleul	38
1.7.2.2. Citoplasma	40
1.7.2.3. Organite celulare	41
1.7.2.3.1. Mitocondrii	41
1.7.2.3.2. Reticulul endoplasmatic. Ribosomii	43
1.7.2.3.3. Complexul Golgi	46
1.7.2.3.4. Peroxisomi	46
1.7.2.3.5. Glioxisomi.....	47
1.7.2.3.6. Lizosomi	47
1.7.2.3.7. Centrosomul	48
1.7.2.3.8. Plastide	49
1.7.2.3.9. Vacuole	50
1.7.2.4. Citoscheletul	50
1.7.2.5. Membrana celular	51
1.7.2.5.1. Ultrastructura biomembranelor	52
1.7.2.5.2. Rolul biologic al membranelor	54
1.7.2.6. Bariere membranare ale celulelor	55
1.7.2.6.1. Sisteme de transport – generalit i	56
1.7.2.6.2. Sisteme de microtransport	57
1.7.2.6.2.1. Transportul transmembranar pasiv	57
1.7.2.6.2.2. Transportul transmembranar activ	63
1.7.2.6.3. Sisteme de macrotransport	65
1.7.2.6.3.1. Endocitoza	65
1.7.2.6.3.2. Exocitoza	66
1.7.2.6.3.3. Specificul sistemelor de macrotransport	67

CUPRINS

1.7.2.7. Matricea extracelular	68
1.7.2.7.1. Constitu ia matricei extracelulare	68
1.7.2.7.2. Interac iuea de tip celul - matrice extracelular	70
1.7.3. Ciclul celular	71
1.7.4. Tanatocitoza – un concept acreditabil	73
2. INVESTIGAREA ULTRASTRUCTURII I BIOCONSTITUEN ILOR ..	77
<i>Zeno Garban, Adina-Elena Avacovici, Gabriela Garban, Mirela Ahmadi</i>	
2.1. Metodologia general a investiga iilor	77
2.1.1. Materiale biologice	77
2.1.1.1. Organismul animal intact	78
2.1.1.2. Organéle	78
2.1.1.3. Celule	80
2.1.1.4. Constituen i subcelulari	80
2.1.1.5. Virusurile	81
2.1.1.6. Enzimele izolate	81
2.1.2. Procedee de microscopie	81
2.1.2.1. Principii generale	82
2.1.2.2. Caracteristicile procedeeilor de microscopie	83
2.1.2.3. Microscopia fotonic	84
2.1.2.3.1. Microscopul fotonic	84
2.1.2.3.2. Tehnici specifice	85
2.1.2.4. Microscopia electronic	87
2.1.2.4.1. Microscopul electronic	87
2.1.2.4.2. Tehnici specifice	88
2.1.2.5. Procedee microscopice în studiul acizilor nucleici din celule	91
2.1.2.5.1. Procedee specifice citochimiei clasice	91
2.1.2.5.2. Procedee specifice biologiei moleculare	93
2.1.2.5.3. Procedee specifice morfologiei i morfopatologiei	93
2.1.3. Metode biochimice	95
2.1.3.1. Metode analitice metabolice	97
2.1.3.2. Metoda mutan ilor auxotrofi	97
2.1.3.3. Metode izotopice.....	98
2.1.3.3.1. Utilizarea izotopilor stabili	99
2.1.3.3.2. Utilizarea izotopilor radioactivi	99

BIOLOGIE MOLECULAR : CONCEPTE, METODE, APLICA II

2.1.3.4. Metode cromatografice	101
2.1.3.4.1. Cromatografia pe coloan	101
2.1.3.4.2. Cromatografia pe hârtie	103
2.1.3.5. Metode spectrometrice	105
2.1.3.5.1. Spectrometria de absorbție	108
2.1.3.5.2. Spectrometria de emisie	114
2.1.3.5.3. Spectrometria cu raze X	115
2.1.3.5.4. Spectrometria de fluorescență	118
2.1.3.6. Metode stereochemice	120
2.1.3.7. Metode electroforetice	123
2.1.4. Posibilități de investigare integrat	124
2.2. Ultrastructura constituenților celulari	126
2.2.1. Rolul tehnicilor cito- și histochemice	126
2.2.2. Fracționarea constituenților celulari	126
2.2.2.1. Principiul centrifugării	127
2.2.2.2. Tipuri de centrifugare	129
2.2.2.2.1. Centrifugarea simplă	129
2.2.2.2.2. Centrifugarea de zonă	130
2.2.2.2.3. Centrifugarea izopicnică	130
2.2.2.3. Implicațiile fracționării celulare	131
3. ACIZII NUCLEICI: STRUCTURĂ CHIMICĂ - ACTIVITATE	
BIOLOGIC	133
<i>Zeno Garban</i>	
3.1. Considerații generale	133
3.2. Componente structurale	135
3.2.1. Pentoze	135
3.2.2. Nucleobaze	136
3.2.2.1. Nucleobaze pirimidinice	137
3.2.2.2. Nucleobaze purinice	138
3.2.2.3. Nucleobaze cu incidență redusă	139
3.2.2.4. Tautomeria nucleobazelor	139
3.2.3. Acidul fosforic	142
3.3. Precursori structurali	143
3.3.1. Nucleozide	143
3.3.2. Nucleotide	146
3.3.2.1. Mononucleotide	146
3.3.2.2. Derivați nucleotidici	148

CUPRINS

3.3.2.2.1. Nucleotidpolifosfa i	148
3.3.2.2.2. Polinucleotide	150
3.4. Acizii nucleici i nucleoproteidele	151
3.4.1. Particularit i structurale generale	151
3.4.2. Leg turi chimice intramoleculare	152
3.5. Acizii deoxiribonucleici	155
3.5.1. Structura chimic	155
3.5.1.1. Structura primar	155
3.5.1.2. Structura secundar	160
3.5.1.3. Structura ter iar	162
3.5.1.4. Structura cuaternar	164
3.5.2. Genuri de acizi deoxiribonucleici	165
3.5.2.1. DNA cu dextrorota ie	165
3.5.2.1.1. Particularit i structurale stereochemice	166
3.5.2.1.2. Elemente descriptive privind genurile de DNA	169
3.5.2.2. DNA cu senestrorota ie	170
3.5.2.3. For e intramoleculare specifice pentru DNA	172
3.5.2.4. Dextrorota ia i senestrorota ia la DNA	172
3.5.3. Particularit i topologice la DNA	173
3.6. Acizii ribonucleici	175
3.6.1. Structura chimic	176
3.6.1.1. Structura primar	177
3.6.1.2. Structura secundar	177
3.6.1.3. Structura ter iar	179
3.6.2. Tipuri de acizi ribonucleici	180
3.6.2.1. RNA mesager	181
3.6.2.2. RNA de transfer	182
3.6.2.3. RNA ribosomal	184
3.6.2.4. RNA nuclear mic	185
3.6.2.5. Conforma ii macromoleculare la RNA	186
4. ACIZII NUCLEICI ÎN BIOLOGIA MOLECULAR MODERN	187
<i>Zeno Garban</i>	
4.1. Considera ii generale	187
4.2. Gene, acizi nucleici, geniul genetic	189
4.2.1. Cadrul sinoptic	189
4.2.2. Informa ia biologic i acizii nucleici	192
4.3. Rela ia DNA – filia ie molecular	195
4.3.1. Nivele de filia ie	195

BIOLOGIE MOLECULAR : CONCEPTE, METODE, APLICA II

4.3.2. Materia vie i secven ele de DNA	196
4.4. Structuri electronice la nucleobaze: particularit i, importan	197
Referin e bibliografice (selective)	199
PARTEA II. METODE SPECIFICE BIOLOGIEI MOLECULARE	203
5. GENOMUL I ORGANIZAREA GENIC A MATERIEI VII	205
<i>Zeno Garban, Elisabeta-Mihaela Mitroi</i>	
5.1. Considera ii generale	205
5.1.1. Genomul la virusuri	208
5.1.2. Genomul la procariote	210
5.1.3. Genomul la eucariote	211
5.2. Interrela ia genotip – fenotip – mediu	212
5.2.1. Conceptul de genotip	213
5.2.2. Conceptul de fenotip	214
5.2.3. Ac iunea mediului	215
5.2.4. Genele i programul genetic	216
5.3. Transmiterea informa iei genice	217
5.3.1. Privire general	217
5.3.2. Procesul de replica ie	218
5.3.3. Procesul de transcrip ie.....	222
5.3.4. Procesul de transla ie	225
5.3.4.1. Specificul transla iei	225
5.3.4.2. Caracteristicile codului genetic	227
5.3.4.3. Aparatul de transla ie.....	232
5.3.4.4. Activarea aminoacizilor	233
5.3.4.5. Biosinteza proteinelor – stadii	235
5.3.4.6. Energogeneza i reglarea biosintezei proteinelor	239
6. INVESTIGAREA ACIZILOR NUCLEICI ÎN BIOLOGIA MOLECULAR	241
<i>Zeno Garban, Gabriela Garban, Sorina Mihacea, Adina-Elena Avacovici</i>	
6.1. Considera ii generale	241
6.2. Metode de dererminare a secven elor din molecule de acizi nucleici	243
6.2.1. Privire sinoptic	243
6.2.2. Metoda Maxam-Gilbert	244
6.2.3. Metoda Sanger	245

CUPRINS

6.2.4. Aplica ii generale	247
6.3. Metode de hibridizare a catenelor de acizi nucleici	247
6.3.1. Privire sinoptic	247
6.3.2. Tipuri de hibridizare	248
6.3.3. Disocierea și asocierea acizilor nucleici	249
6.3.3.1. Reac ia de disociere a acizilor nucleici	250
6.3.3.1.1. Efectul hipercromic	250
6.3.3.1.2. Temperatura de fuziune	251
6.3.3.2. Reac ia de asociere a acizilor nucleici	252
6.3.3.2.1. Viteza reac iei de asociere	253
6.3.3.2.2. Cinetica reac iei de asociere.....	255
6.3.4. Investigarea reac iilor de disociere și de asociere	259
6.3.5. Aplica ii generale	260
6.4. Metode de detectarea prin sonde moleculare	260
6.4.1. Privire sinoptic	260
6.4.2. Sonde moleculare radiomarcate	261
6.4.3. Sonde moleculare chimiomarcate	262
6.4.3.1. Sondele moleculare chimiomarcate direct	262
6.4.3.2. Sondele moleculare chimiomarcate indirect	263
6.4.4. Aplica ii generale	263
6.5. Metode de investigare a fragmentelor moleculare de acizi nucleici	263
6.5.1. Privire sinoptic	263
6.5.2. Metoda Southern.....	264
6.5.3. Metoda Northern	265
6.5.4. Aplica ii generale	265
6.6. Metoda amplific rii prin reac ia în lan a polimerazei (PCR)	266
6.6.1. Privire sinoptic	266
6.6.2. Principii metodologice	266
6.6.2.1. Particularit ile ciclului de amplificare prin PCR	268
6.6.2.2. Investigarea fragmentelor DNA rezultate prin amplificare	270
6.6.3. Procedee specifice ale metodei PCR	271
6.6.3.1. Procedeeul PCR cu punct final (EP-PCR)	271
6.6.3.2. Procedeeul PCR cantitativ în timp real (Q-PCR)	271
6.6.3.3. Procedeeul PCR asociat cu revers-transcrierea (RT-PCR)	273
6.6.4. Aplica ii ale amplific rii prin reac ia în lan a polimerazei (PCR).....	276
6.6.4.1. Aplica ii ale PCR cu punct final(EP-PCR)	276

BIOLOGIE MOLECULAR : CONCEPTE, METODE, APLICA II

6.6.4.2. Aplica ii ale tehnicii PCR cantitativ în timp real (Q-PCR)	277
6.6.4.3. Aplica ii ale tehnicii PCR asociat cu revers-transcrierea (RT-PCR)	277
6.7. Metoda evalu rii polimorfismului lungimii fragmentului de restric ie (RFLP)	278
6.7.1. Privire sinoptic	278
6.7.2. Principii metodologice	278
6.7.3. Aplica ii ale metodei de evaluare a RFLP	280
6.7.3.1. Genetica invers	281
6.7.3.2. Amprenta DNA	283
6.8. Metoda evalu rii polimorfismului lungimii fragmentului amplificat (AFLP)	284
6.8.1. Privire sinoptic	284
6.8.2. Principii metodologice	285
6.8.3. Aplica ii ale metodei de evaluare a AFLP	286
6.9. Recombinarea genic – sinoptic	287
6.9.1. Transferul genelor cu ajutorul plasmidelor	287
6.9.1.1. Procedeeul de utilizare a DNA genomic	289
6.9.1.2. Procedeeul de utilizare a RNA mesager	290
7. RECOMBINAREA GENIC NATURAL	291
<i>Gabriela Garban, Adina-Elena Avacovici, Ariana-Bianca Velciov, Zeno Garban</i>	
7.1. Considera ii generale	291
7.2. Recombinarea genic la virusuri	292
7.3. Recombinarea genic la procariote	293
7.3.1. Transformarea	294
7.3.2. Conjugarea	297
7.3.3. Sexduc ia	299
7.3.4. Transduc ia	300
7.4. Recombinarea genic la eucariote	302
8. RECOMBINAREA GENIC MEDIAT TEHNOLOGIC	305
<i>Zeno Garban</i>	
8.1. Considera ii generale	305
8.2. Mijloace operatorie pentru DNA recombinant	306
8.2.1. Enzime de restric ie i modifica ie	306
8.2.1.1. Enzime de restric ie	308

CUPRINS

8.2.1.2. Enzime de modifica ie	312
8.2.2. Enzime din grupa DNA polimerazelor	313
8.2.2.1. DNA polimeraze – DNA dependente	313
8.2.2.2. DNA polimeraze – RNA dependente	314
8.2.3. Enzime din grupa DNA ligazelor	314
8.3. Strategia ob inerii DNA recombinant	316
8.3.1. Principii generale	316
8.3.2. Conceptul de vector	316
8.3.2.1. Plasmidele	317
8.3.2.2. Bacteriofagii	319
8.3.2.3. Cosmidele	320
8.3.3. Conceptul de pasager	321
8.3.4. Formarea moleculelor de DNA recombinant	322
8.3.5. Clonarea DNA recombinant	323
8.4. Recombinarea genic la interfa a cu xenobiochimia	326
8.4.1. Date comparative – attribute xenobiochimice	326
8.4.2. Recombinarea genic i sinteza proteic	328
Referin e bibliografice (selective)	331
PARTEA III. APLICAIILE BIOLOGIEI MOLECULARE	335
9. APLICAIILE CU SPECIFIC BIOTEHNOLOGIC	337
<i>Zeno Garban, Sorina Mihacea, George-Daniel Ghibu, Teodor Vintil , Elisabeta-Mihaela Mitroi</i>	
9.1. Considera ii generale	337
9.2. Specificul domeniilor aplicative	337
9.3. APLICAIILE DE INTERES FARMACEUTIC	338
9.3.1. Ob inerea de hormoni	339
9.3.1.1. Somatostatina	339
9.3.1.2. Insulina	340
9.3.1.3. Hormonul somatotrop	341
9.3.2. Ob inerea de mediatori pentru r spunsul imun	342
9.3.2.1. Interferonii	342
9.3.2.2. Interleukinele	345
9.4. APLICAIILE DE INTERES ALIMENTAR	346
9.4.1. Enzime cu attribute de aditivi alimentari	347
9.4.1.1. Enzimele n biochimia general	347

BIOLOGIE MOLECULAR : CONCEPTE, METODE, APLICA II

9.4.1.2. Enzimele în biotehnologia alimentară	352
9.4.2. Obținerea de aditivi microbiologici enzimatici	354
9.4.3. Obținerea de aditivi biochimici enzimatici	356
9.4.4. Obținerea de preparate enzimatic prin metode specifice biologiei moleculare	356
9.4.5. Investigarea asupra unor sisteme enzimatic in situ	358
9.5. Aplicații în biologia vegetală și animală	359
9.5.1. Biodiversitatea – aspecte conceptuale	359
9.5.2. Aplicații cu referiri la plante	361
9.5.3. Aplicații cu referiri la animale	364
9.5.4. Himerele în biologie	367
9.5.4.1. Date generale	367
9.5.4.2. Himere în regnul vegetal	368
9.5.4.3. Himere în regnul animal	368
9.5.4.3.1. Himere intraspecifice	369
9.5.4.3.2. Himere interspecifice	371
9.5.4.4. Himere animale în cercetarea științific	371
9.6. Aplicații de interes agrobiologic	373
9.6.1. Privire sinoptic	373
9.6.2. Transgeneza: de la concept la aplicații	374
9.6.2.1. Metode de transfer a genelor	374
9.6.2.2. Etapele transgenezei	375
9.6.3. Organisme modificate genetic	376
9.6.3.1. Aspecte din agricultură	376
9.6.3.2. Aspecte din zoocultură	378
9.6.4. Transgenicitatea și mediul	379
9.6.5. Probleme ale agriculturii sustenabile	381
9.7. Cisgeneza și transgeneza	382
9.7.1. Aspecte conexe	382
9.7.2. Specificul proceselor	383
9.7.3. Modul de operare – etape	383
9.8. Biotehnologiile – cadru sinoptic	384
9.8.1. Aspecte interdisciplinare	384
9.8.2. Interconexiuni ale biotehnologiilor	385
9.8.2.1. Procese biologice	385
9.8.2.2. Echipamente tehnologice	385
9.8.2.3. Procedee industriale	386

CUPRINS

10. APLICA II CU SPECIFIC BIOMEDICAL	387
<i>Gabriela Garban, Roxana-Daniela Vintil , Dan-Bogdan Navolan, George-Daniel Ghibu, Zeno Garban</i>	
10.1. Considera ii generale	387
10.2. Explorarea nivelelor de filia ie	387
10.3. Problema diagnosticului în eredopatologie	388
10.3.1. Diagnosticul prenatal	389
10.3.2. Diagnosticul postnatal	390
10.3.3. Investiga ii în obstetric i ginecologie	391
10.4. Celulele stem totipotente i pluripotente în medicina modern ...	397
10.4.1. Cadrul sinoptic	397
10.4.2. Tipuri de celule stem pluripotente	398
10.4.2.1. Celulele stem pluripotente embrionare	398
10.4.2.2. Celule stem pluripotente adulte	399
10.4.3. Aplica ii ale celulelor stem pluripotente	400
10.4.3.1. Aplica ii ale celulelor stem pluripotente embrionare ...	400
10.4.3.2. Aplica ii ale celulelor stem pluripotente adulte	401
10.5. Xenotransplantele: prezent i viitor	403
10.5.1. Cadrul sinoptic	403
10.5.2. Problema rejec iei de xenotransplant	403
10.5.3. Încerc ri moderne de realizare a xenotransplantului	404
10.5.3.1. C i generale pentru asigurarea toleran ei la xenotransplant	405
10.5.3.2. C ile suplimentare de analizare a toleran ei de xenotransplant	406
10.5.4. Perspective ale xenotransplantelor	407
10.6. Detectarea infec iilor	408
10.7. Ob inerea vaccinurilor	408
10.8. Investiga ii în medicina legal	410
10.9. Cartarea genomului uman	412
11. APLICA II ÎN STUDIUL CRONOBIOCHIMIEI	415
<i>Zeno Garban, Gabriela Garban, Adina-Elena Avacovici</i>	
11.1. Considera ii generale	415
11.2. Bioritmurile i biologia molecular	416
11.2.1. Periodicitatea bioritmurilor	416
11.2.2. Condi ionarea bioritmurilor	417
11.3. Principalele tipuri de bioritmuri	418
11.3.1. Bioritmurile ultradiene	418

BIOLOGIE MOLECULAR : CONCEPTE, METODE, APLICA II

11.3.2. Bioritmurile circadiene	418
11.3.3. Bioritmurile infradiene.....	420
11.4. Parametri cronbiochimici specifici ritmurilor biologice	422
11.5. Autonomia i sincronizarea bioritmurilor	424
11.5.1. Autonomia bioritmurilor	424
11.5.2. Sincronizarea bioritmurilor	425
11.6. Implica ii ale biologiei moleculare i cronbiochimiei în senescen	426
12. APLICA II ÎN STUDIUL XENOBIOCHIMIEI	429
<i>Zeno Garban</i>	
12.1. Considera ii generale	429
12.2. Xenobiotice de interes nutri ional	431
12.2.1. Aditivi alimentari	432
12.2.2. Poluan i chimici alimentari	435
12.2.3. Reac ii adverse cu specific xenobiotic	438
12.3. Xenobiotice de interes farmaceutic.....	441
12.3.1. Medicamente chimioterapice	441
12.3.2. Chimioterapice citostatice	442
12.4. Xenobiotice de interes nutri ional în carcinogeneza chimic	442
12.4.1. Privire sinoptic	442
12.4.2. Acidul deoxiribonucleic în carcinogeneza chimic	443
12.4.3. Interac ia unor compu i organici policiclici i a unor ioni metalici cu DNA	445
12.4.4. Aduc i DNA cu compu i organici policiclici i cu ioni metalici	451
12.5. Xenobiotice de interes farmaceutic utilizate în chimioterapia citostatic	456
12.5.1. Privire sinoptic	456
12.5.2. Acidul deoxiribonucleic în chimioterapia citostatic	457
12.5.3. Interac ia unor chimioterapice citostatice cu DNA	459
12.5.4. Complec i DNA-citostatice	460
Referin e bibliografice (selective)	467
Addenda.....	475
Glosar minimal	481
Retrospective	495
Index de subiecte	497
Remember	503