



# BIOLOGIE CELULARA SI MOLECULARA

---

Prezentare generală



## Biologie Celulara si Moleculara

### *Modul Biologie celulara:*

Notiuni microscopie

Evaluare organite celulare;

Culturi de celule;

### *Modul Biologie moleculara:*

Izolarea ADN și ARN;

Amplificarea ADN/ARN

Electroforeza

Tehnici de detectare a mutațiilor:

ASO.

RFLP.

DGGE.

Real-Time PCR.

Secvențiere.

ADN și ARN non-self.

### **Modul Biologie Celulara:**

- Principiile microscopiei optice; Microscopul electronic; Tehnici de preparare a țesuturilor pentru examinarea la microscopul optic și electronic;
- Tehnici de evaluare structurală și funcțională a organitelor celulare;
- Culturi de celule;

### **Modul Biologie Moleculara:**

- Izolarea și purificarea ADN și ARN; Metode de cuantificare a acizilor nucleici.
- Amplificarea ADN/ARN - Tehnica PCR;
- Electroforeza – tipuri de electroforeză;
- Tehnici de detectare a mutațiilor: ASO. RFLP. DGGE. Real-Time PCR.
- Tehnici de detectare a mutațiilor: Secvențiere.
- Metode moleculare utilizate pentru detecția ADN și ARN non-self.



## Biologie Celulara si Moleculara

### **Modul Biologie celulara:**

Notiuni microscopie

Evaluare organite celulare;

Culturi de celule;

### **Modul Biologie moleculara:**

Izolarea ADN și ARN;

Amplificarea ADN/ARN

Electroforeza

Tehnici de detectare a mutațiilor:

ASO.

RFLP.

DGGE.

Real-Time PCR.

Secvențiere.

ADN și ARN non-self.

## Principiile microscopiei optice. Tipuri speciale de microscopie optică. Microscopul electronic. Principii. Interpretarea imaginilor de ME.

- Scopul microscopiei:
  - Diagnostic
  - Cercetare
- Microscopia optica:
  - Componentele microscopului optic
  - Principiul de functionare
- Vizualizare la microscopul optic. Imagini.
- Variante de microscopie optica:
  - Microscopia cu fluorescenta
- Microscopia electronica

# Biologie Celulara si Moleculara

## **Modul Biologie celulara:**

Notiuni microscopie

Evaluare organite celulare;

Culturi de celule;

## **Modul Biologie moleculara:**

Izolarea ADN și ARN;

Amplificarea ADN/ARN

Electroforeza

Tehnici de detectare a mutațiilor:

ASO.

RFLP.

DGGE.

Real-Time PCR.

Secvențiere.

ADN și ARN non-self.



## Biologie Celulara si Moleculara

### **Modul Biologie celulara:**

Notiuni microscopie

Evaluare organite celulare;

Culturi de celule;

### **Modul Biologie moleculara:**

Izolarea ADN și ARN;

Amplificarea ADN/ARN

Electroforeza

Tehnici de detectare a mutațiilor:

ASO.

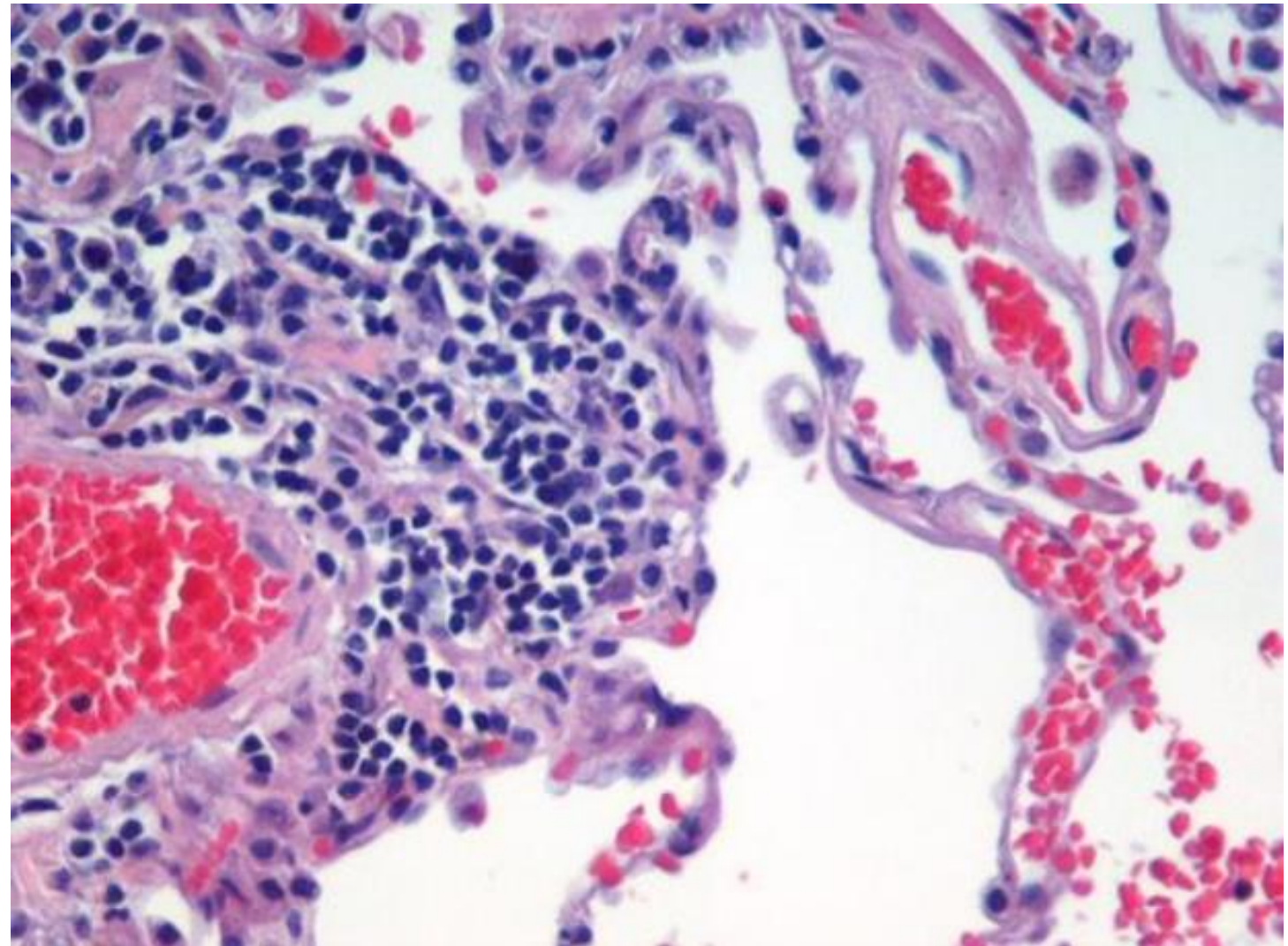
RFLP.

DGGE.

Real-Time PCR.

Secvențiere.

ADN și ARN non-self.



Microscopie optica. 40x.  
Colorație HE (hematoxină-eozina)

# Biologie Celulara si Moleculara

## **Modul Biologie celulara:**

Notiuni microscopie

Evaluare organite celulare;

Culturi de celule;

## **Modul Biologie moleculara:**

Izolarea ADN și ARN;

Amplificarea ADN/ARN

Electroforeza

Tehnici de detectare a mutațiilor:

ASO.

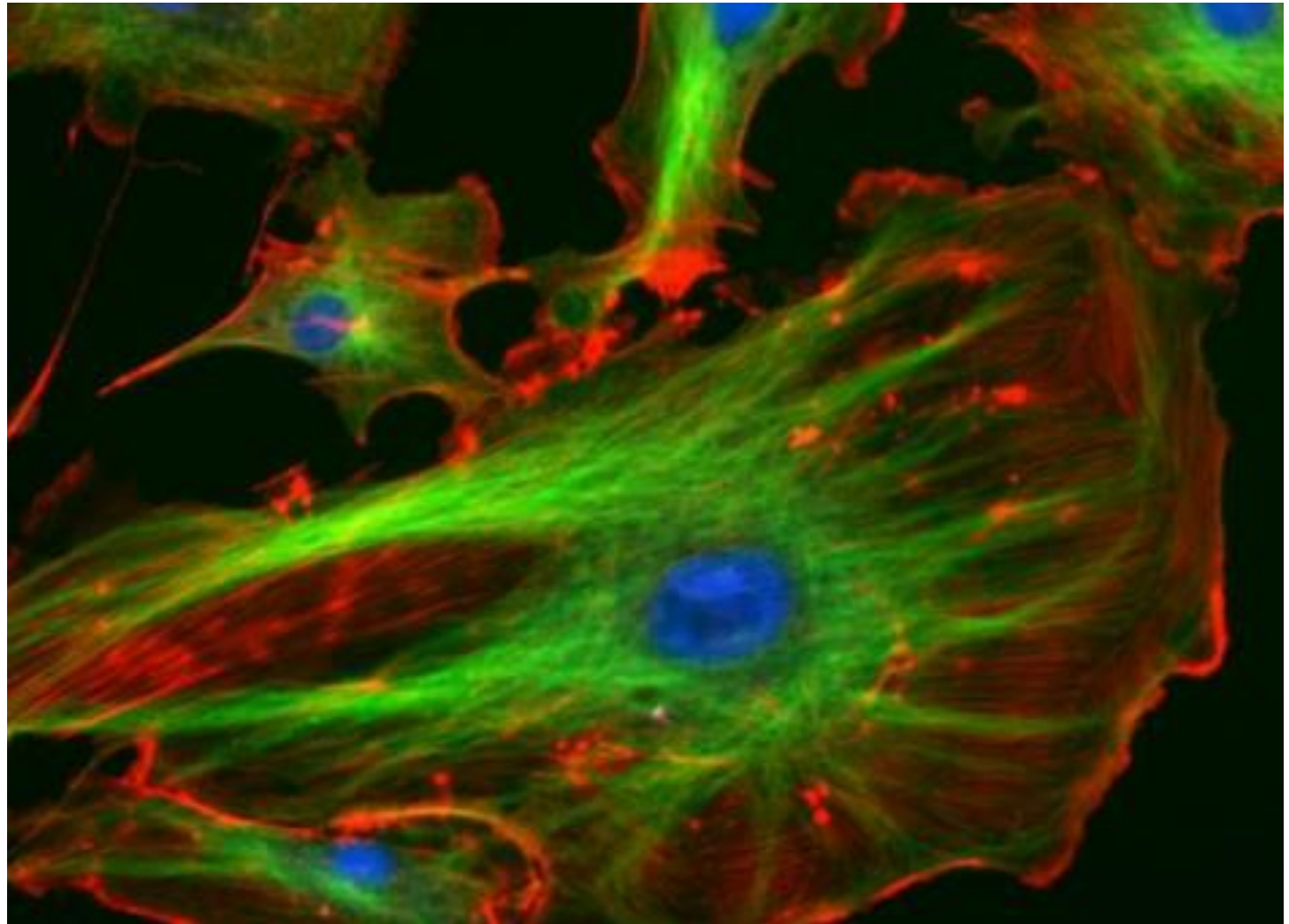
RFLP.

DGGE.

Real-Time PCR.

Secvențiere.

ADN și ARN non-self.



Microscopie cu fluorescanta.

# Biologie Celulara si Moleculara

## **Modul Biologie celulara:**

Notiuni microscopie

Evaluare organite celulare;

Culturi de celule;

## **Modul Biologie moleculara:**

Izolarea ADN și ARN;

Amplificarea ADN/ARN

Electroforeza

Tehnici de detectare a mutațiilor:

ASO.

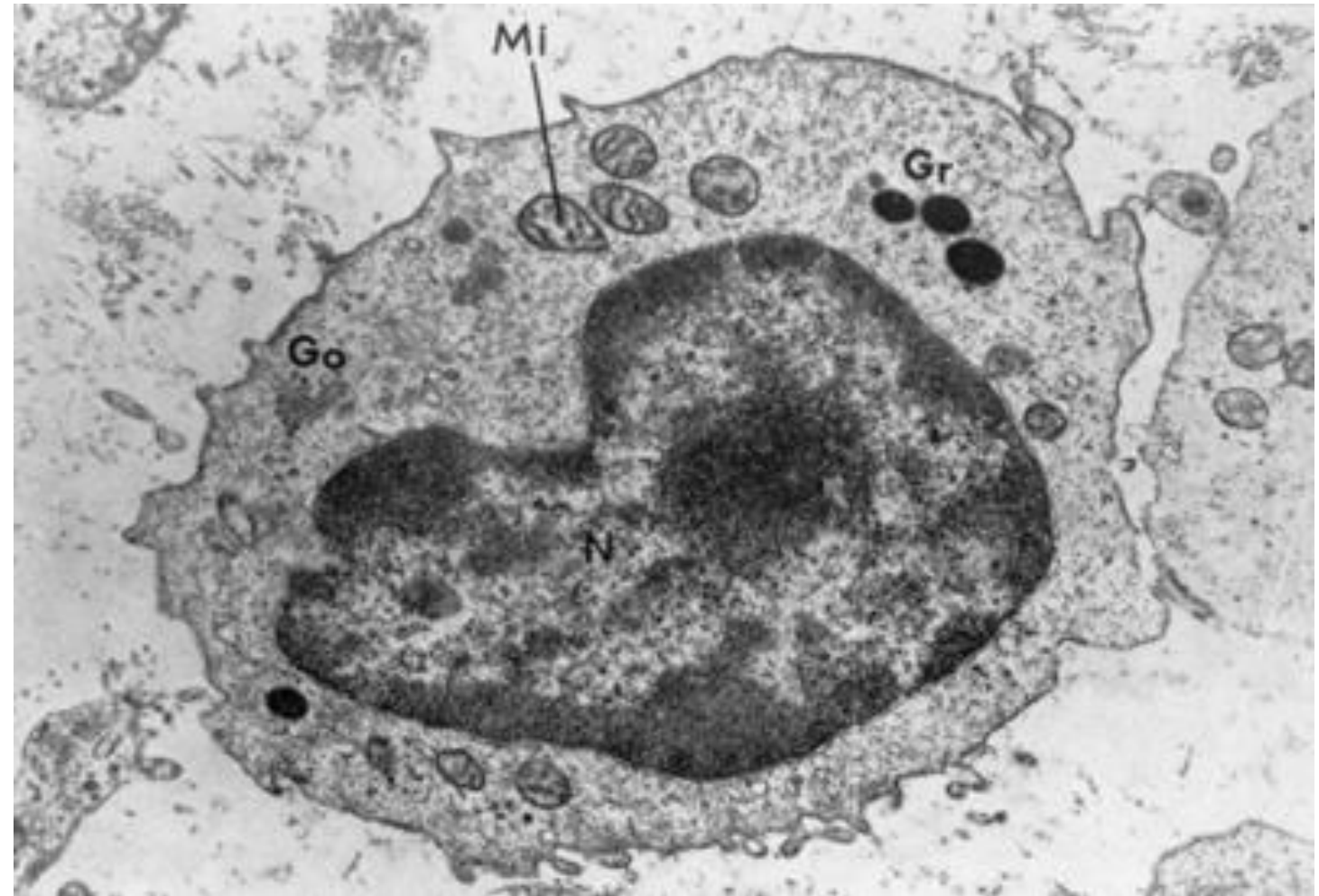
RFLP.

DGGE.

Real-Time PCR.

Secvențiere.

ADN și ARN non-self.



Microscopie electronica.



## Biologie Celulara si Moleculara

### **Modul Biologie celulara:**

Notiuni microscopie

Evaluare organite celulare;

Culturi de celule;

### **Modul Biologie moleculara:**

Izolarea ADN și ARN;

Amplificarea ADN/ARN

Electroforeza

Tehnici de detectare a mutațiilor:

ASO.

RFLP.

DGGE.

Real-Time PCR.

Secvențiere.

ADN și ARN non-self.

- Tehnici de evaluare structurală și funcțională a organitelor celulare.
- Organizarea celulelor:
  - Tipuri de celule: procariote, eucarioate
  - Structură
- Fraționarea celulară/Izolarea organitelor celulare
  - Metode de rupere a membranelor celulare:
    - Fizice
    - Chimice
  - Metode de centrifugare
    - Centrifugare diferențială
    - Centrifugare în gradient de densitate



# Biologie Celulara si Moleculara

## **Modul Biologie celulara:**

Notiuni microscopie

Evaluare organite celulare;

Culturi de celule;

## **Modul Biologie moleculara:**

Izolarea ADN și ARN;

Amplificarea ADN/ARN

Electroforeza

Tehnici de detectare a mutațiilor:

ASO.

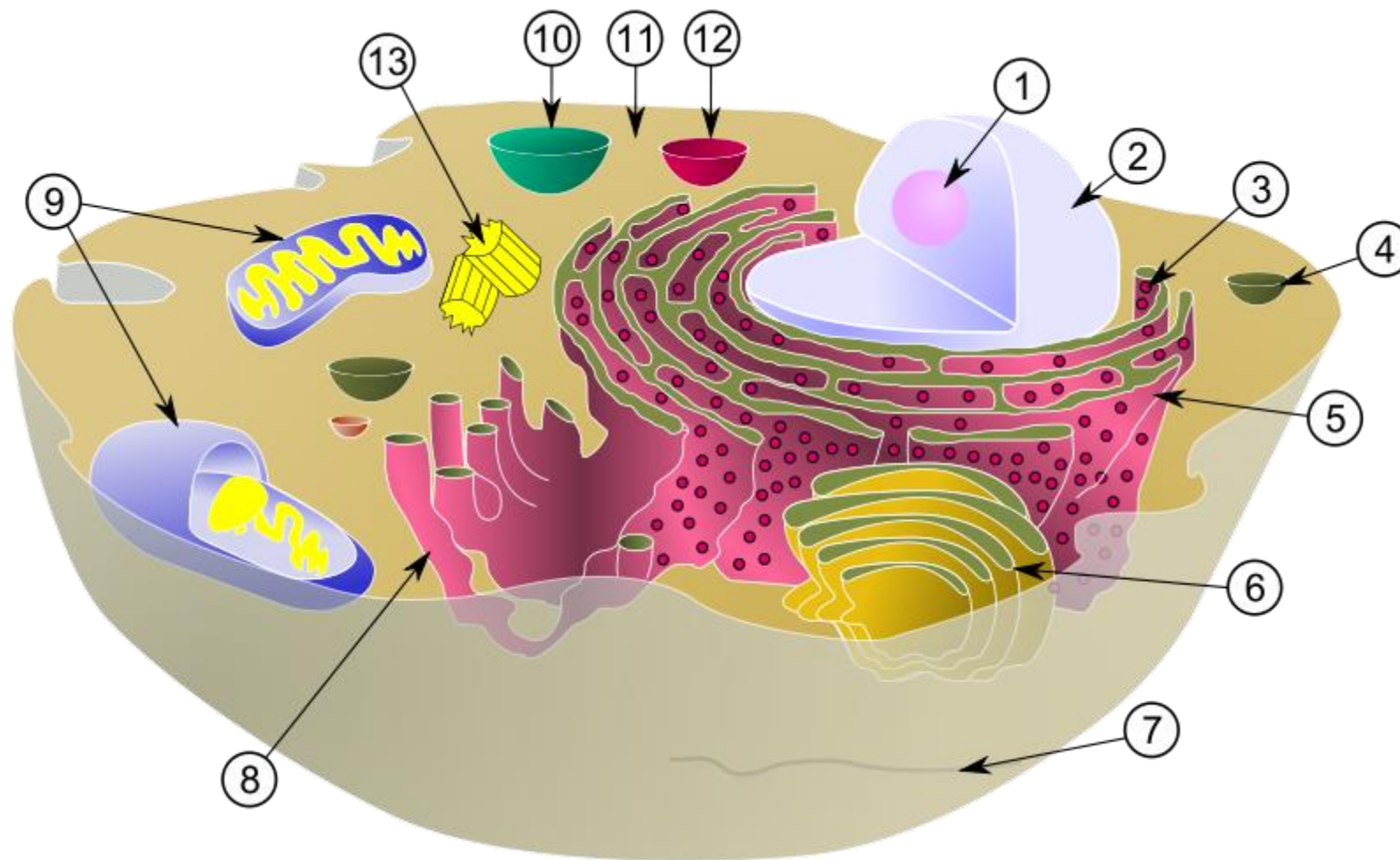
RFLP.

DGGE.

Real-Time PCR.

Secvențiere.

ADN și ARN non-self.



# Biologie Celulara si Moleculara

## Modul Biologie celulara:

Notiuni microscopie

Evaluare organite celulare;

Culturi de celule;

## Modul Biologie moleculara:

Izolarea ADN și ARN;

Amplificarea ADN/ARN

Electroforeza

Tehnici de detectare a mutațiilor:

ASO.

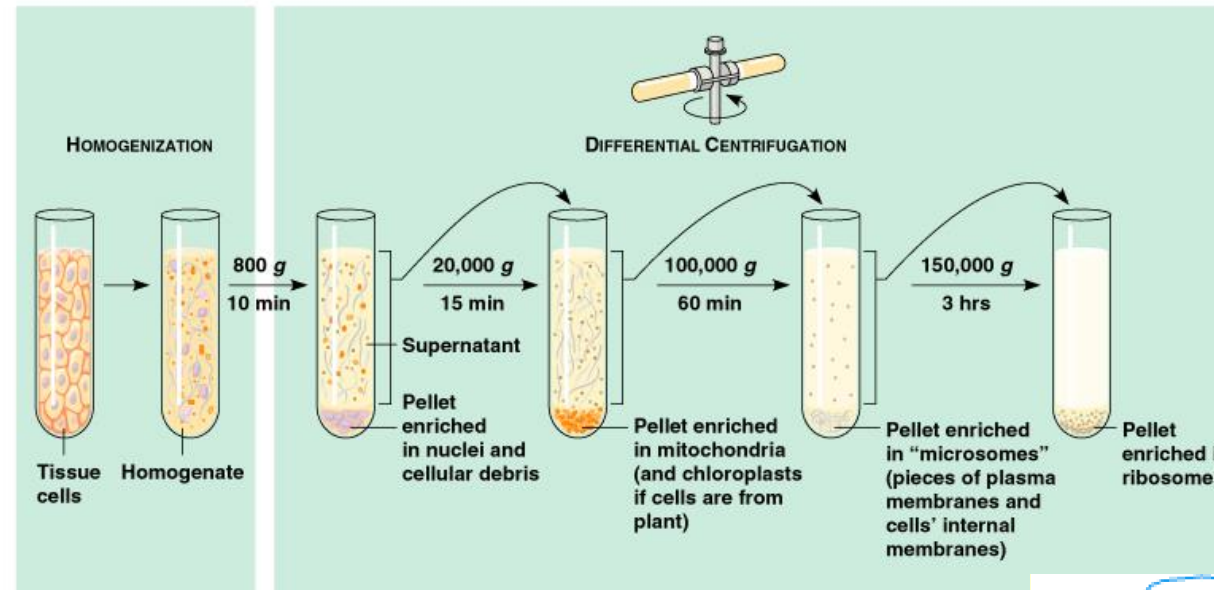
RFLP.

DGGE.

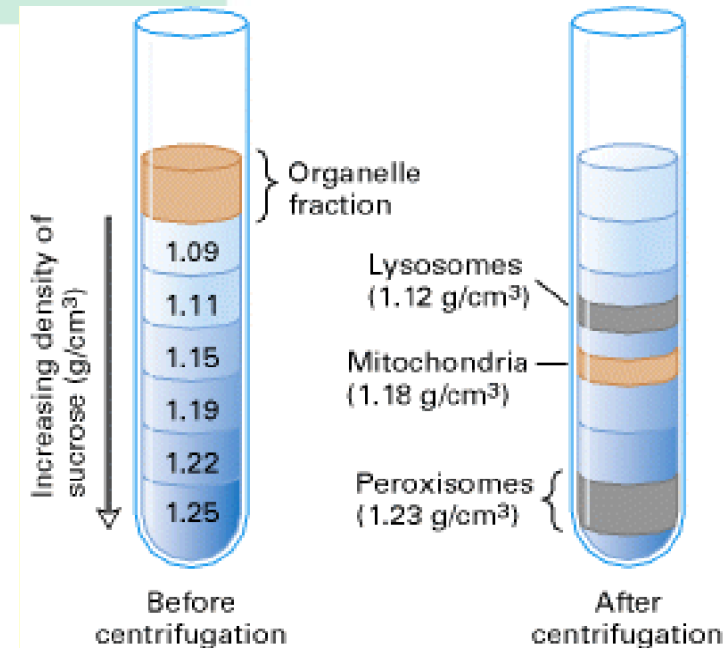
Real-Time PCR.

Secvențiere.

ADN și ARN non-self.



©1999 Addison Wesley Longman, Inc.



# Biologie Celulara si Moleculara

## **Modul Biologie celulara:**

Notiuni microscopie

Evaluare organite celulare;

Culturi de celule;

## **Modul Biologie moleculara:**

Izolarea ADN și ARN;

Amplificarea ADN/ARN

Electroforeza

Tehnici de detectare a mutațiilor:

ASO.

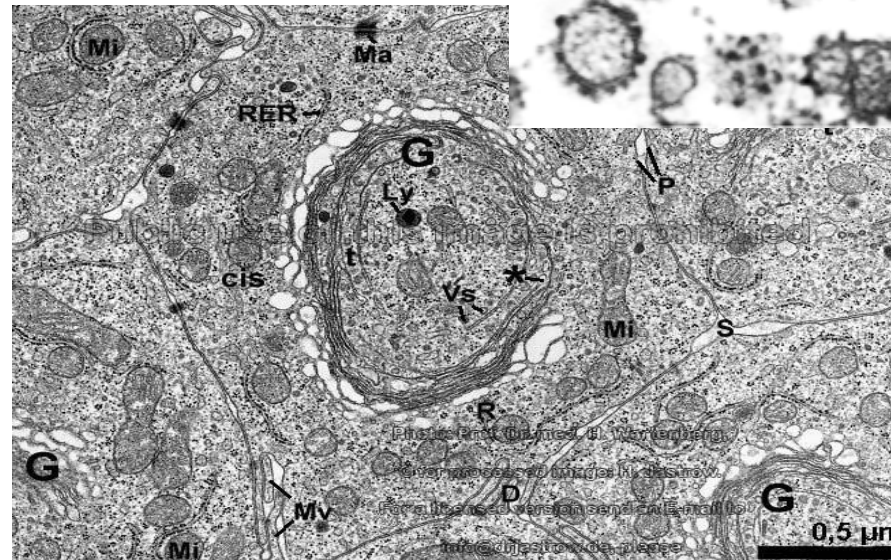
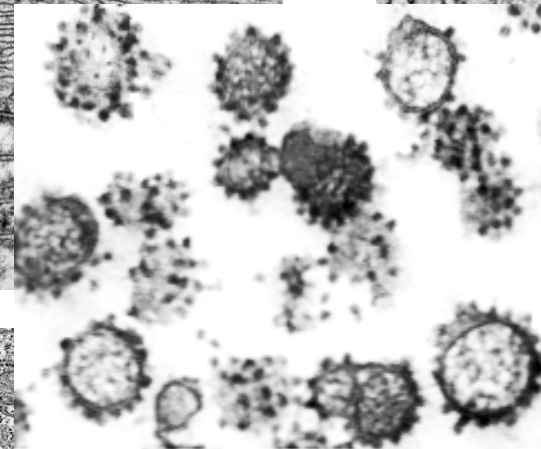
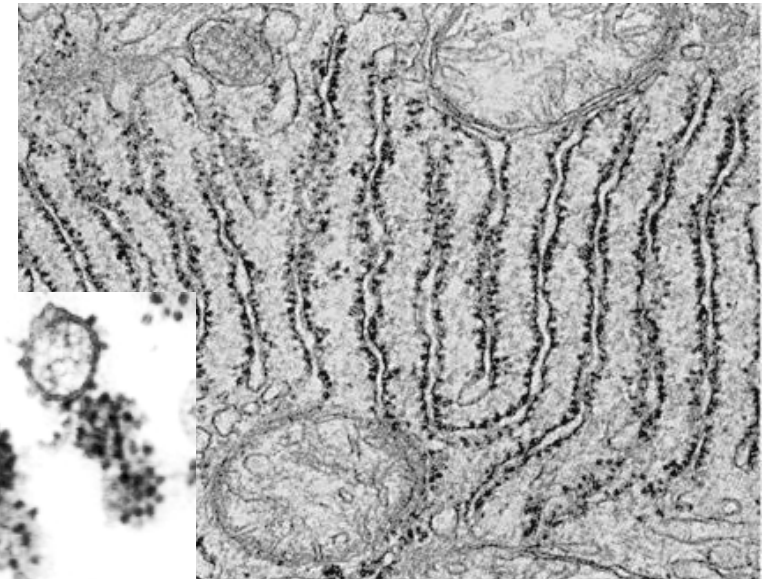
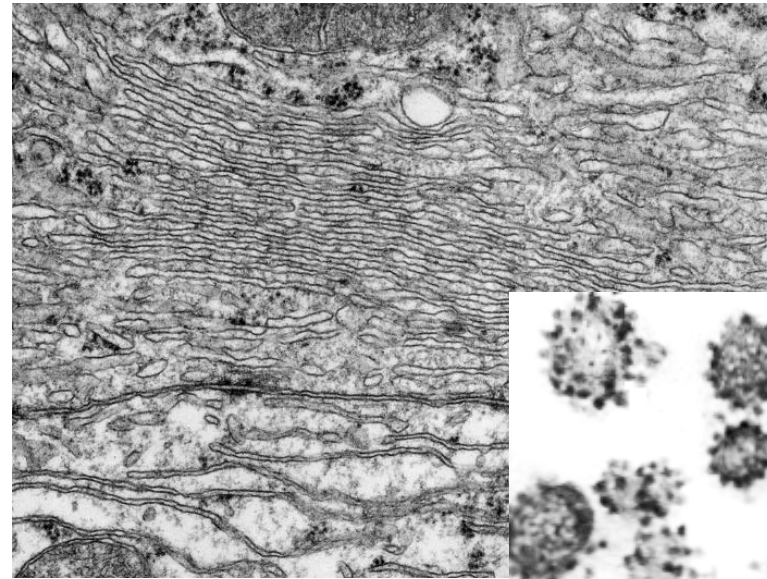
RFLP.

DGGE.

Real-Time PCR.

Secvențiere.

ADN și ARN non-self.



Don Fawcett-Keith Porter/Photo Researchers, Inc.



## Biologie Celulara si Moleculara

### **Modul Biologie celulara:**

Notiuni microscopie

Evaluare organite celulare;

Culturi de celule;

### **Modul Biologie moleculara:**

Izolarea ADN și ARN;

Amplificarea ADN/ARN

Electroforeza

Tehnici de detectare a mutațiilor:

ASO.

RFLP.

DGGE.

Real-Time PCR.

Secvențiere.

ADN și ARN non-self.

- Culturi de celule. Diviziunea celulară; Ciclul celular; Controlul activității celulare.
- Ciclul celular
  - Etapele ciclului celular
  - Controlul ciclului celular
- Culturi de celule
  - Disocierea celulelor din țesut
  - Sortarea celulelor
  - Mediul de cultură
  - Tipuri de culturi în funcție de origine
  - Culturi de celule stem

# Biologie Celulara si Moleculara

## **Modul Biologie celulara:**

Notiuni microscopie

Evaluare organite celulare;

Culturi de celule;

## **Modul Biologie moleculara:**

Izolarea ADN și ARN;

Amplificarea ADN/ARN

Electroforeza

Tehnici de detectare a mutațiilor:

ASO.

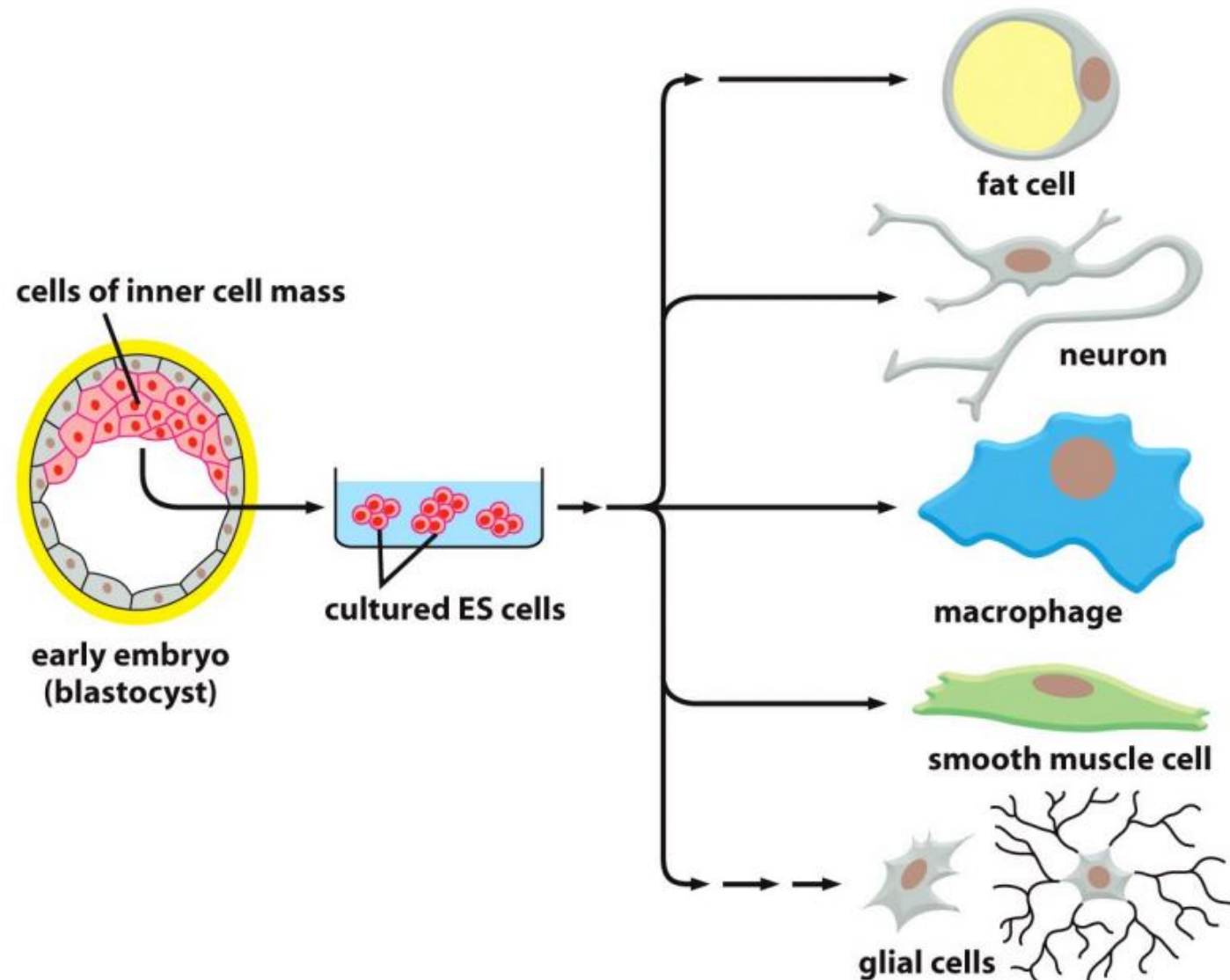
RFLP.

DGGE.

Real-Time PCR.

Secvențiere.

ADN și ARN non-self.



# Biologie Celulara si Moleculara

## **Modul Biologie celulara:**

Notiuni microscopie

Evaluare organite celulare;

Culturi de celule;

## **Modul Biologie moleculara:**

Izolarea ADN și ARN;

Amplificarea ADN/ARN

Electroforeza

Tehnici de detectare a mutațiilor:

ASO.

RFLP.

DGGE.

Real-Time PCR.

Secvențiere.

ADN și ARN non-self.

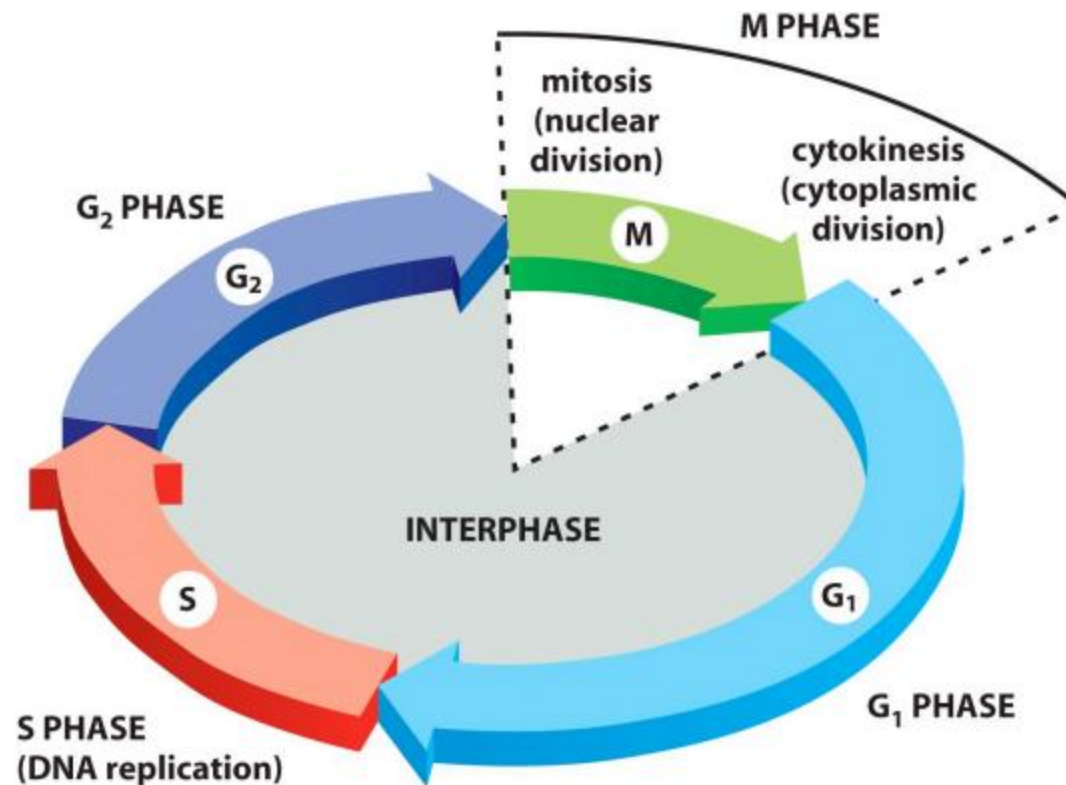


Figure 17-4 Molecular Biology of the Cell 5/e (© Garland Science 2008)

# Biologie Celulara si Moleculara

## **Modul Biologie celulara:**

Notiuni microscopie

Evaluare organite celulare;

Culturi de celule;

## **Modul Biologie moleculara:**

Izolarea ADN și ARN;

Amplificarea ADN/ARN

Electroforeza

Tehnici de detectare a mutațiilor:

ASO.

RFLP.

DGGE.

Real-Time PCR.

Secvențiere.

ADN și ARN non-self.

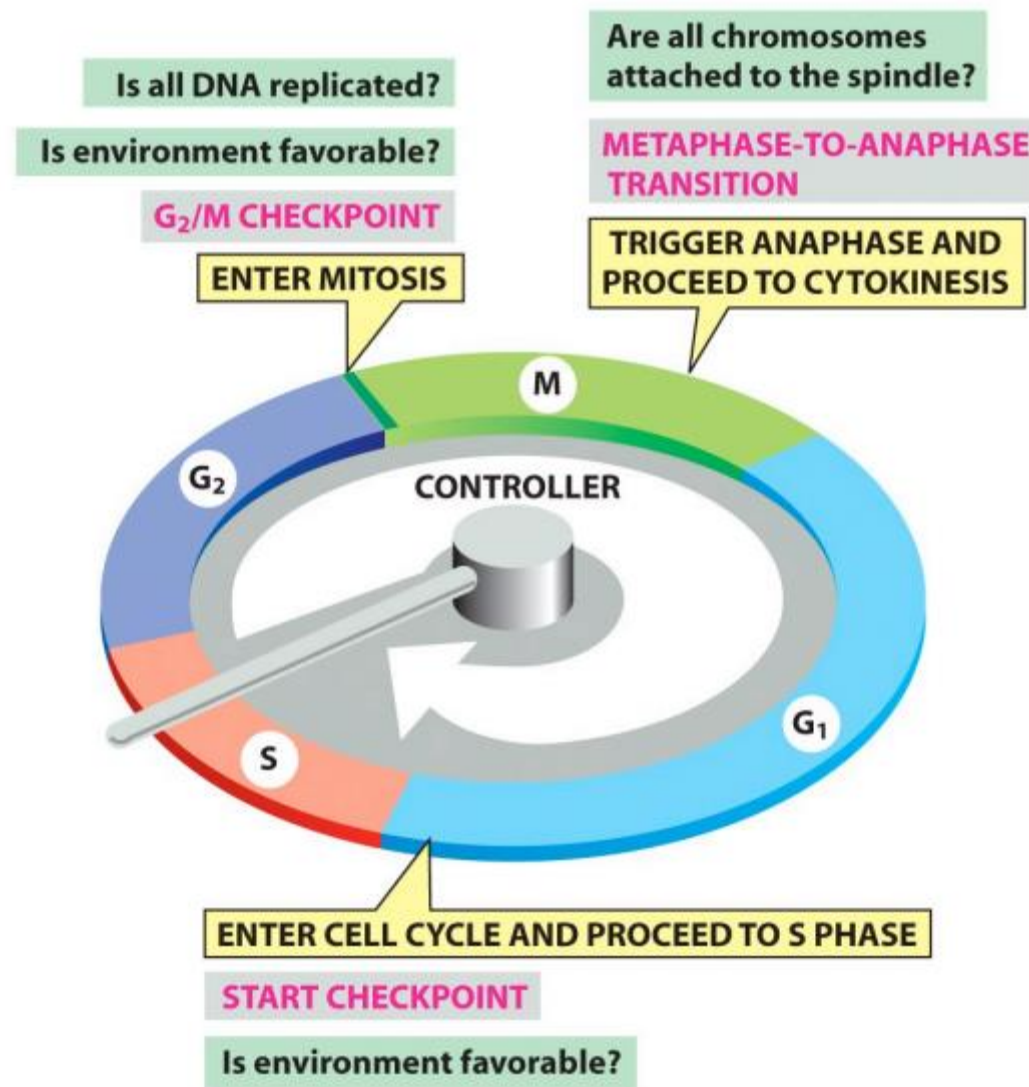


Figure 17-14 Molecular Biology of the Cell 5/e (© Garland Science 2008)

# Biologie Celulara si Moleculara

## **Modul Biologie celulara:**

Notiuni microscopie

Evaluare organite celulare;

Culturi de celule;

## **Modul Biologie moleculara:**

Izolarea ADN și ARN;

Amplificarea ADN/ARN

Electroforeza

Tehnici de detectare a mutațiilor:

ASO.

RFLP.

DGGE.

Real-Time PCR.

Secvențiere.

ADN și ARN non-self.



CO<sub>2</sub>, air, H<sub>2</sub>O





## Biologie Celulara si Moleculara

### **Modul Biologie celulara:**

Notiuni microscopie

Evaluare organite celulare;

Culturi de celule;

### **Modul Biologie moleculara:**

Izolarea ADN și ARN;

Amplificarea ADN/ARN

Electroforeza

Tehnici de detectare a mutațiilor:

ASO.

RFLP.

DGGE.

Real-Time PCR.

Secvențiere.

ADN și ARN non-self.

- Metode moleculare utilizate în cercetare și diagnostic. Principii.
- Clonarea ADN
  - Celulară in vivo
  - Celulară in vitro, bazată pe reacția de polimerizare în lanț (PCR)
- Analiza sau detecția specifică a unei secvențe de ADN sau ARN
  - Hibridizarea moleculară (prin complementaritate) cu o sondă
    - Analiza ADN genomic prin metoda de transfer Southern.
    - Analiza cu sonde oligonucleotidice specifice unei alele (ASO)
    - Analiza ARN mesager prin Northern blot
    - Hibridizarea in situ a ADN/ARN
    - Identificarea ADN/ARN al organismelor exogene
  - Analiza secvenței nucleotidelor din ADN – secvențierea ADN

# Biologie Celulara si Moleculara

## **Modul Biologie celulara:**

Notiuni microscopie

Evaluare organite celulare;

Culturi de celule;

## **Modul Biologie moleculara:**

Izolarea ADN și ARN;

Amplificarea ADN/ARN

Electroforeza

Tehnici de detectare a mutațiilor:

ASO.

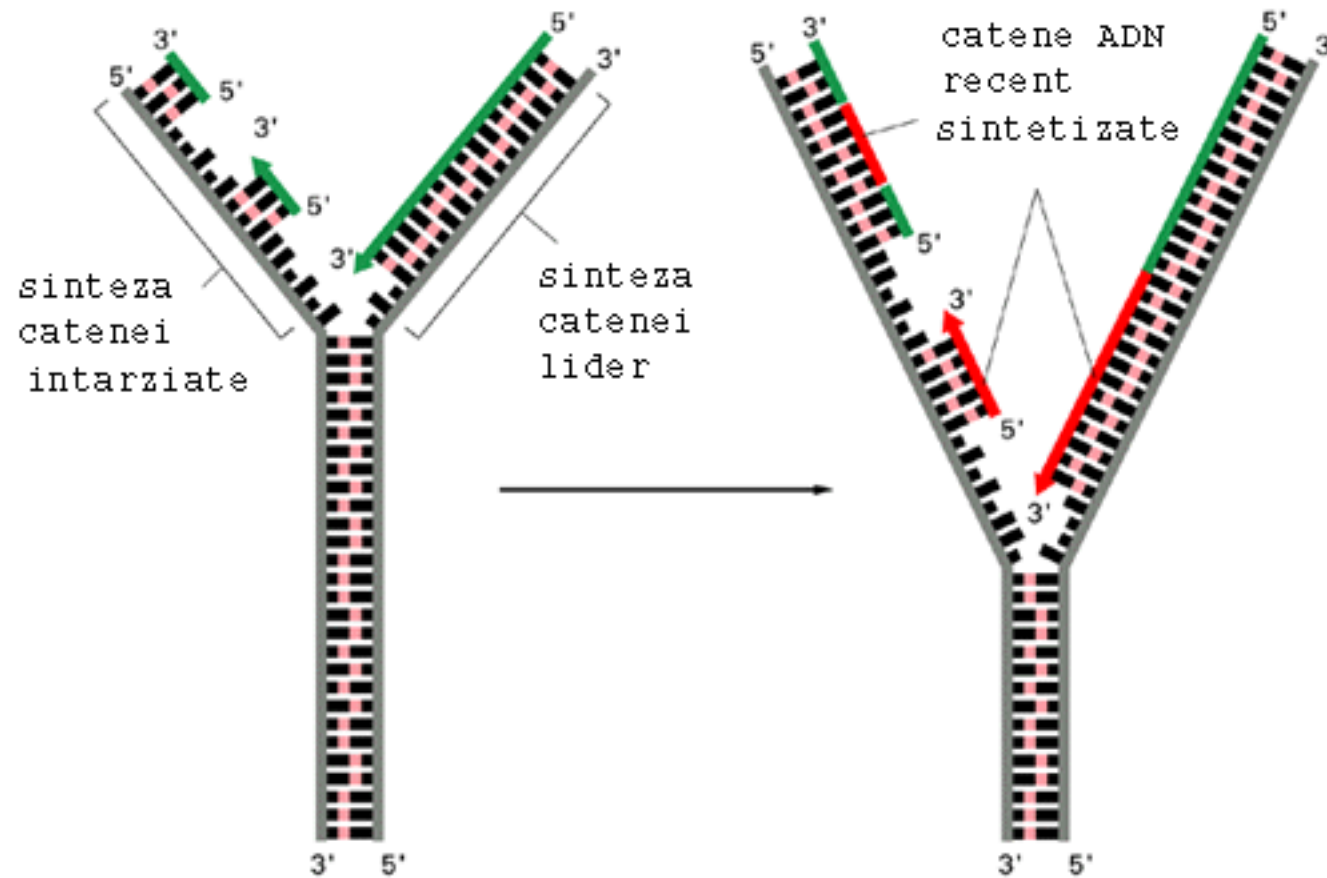
RFLP.

DGGE.

Real-Time PCR.

Secvențiere.

ADN și ARN non-self.



# Biologie Celulara si Moleculara

## **Modul Biologie celulara:**

Notiuni microscopie

Evaluare organite celulare;

Culturi de celule;

## **Modul Biologie moleculara:**

Izolarea ADN și ARN;

Amplificarea ADN/ARN

Electroforeza

Tehnici de detectare a mutațiilor:

ASO.

RFLP.

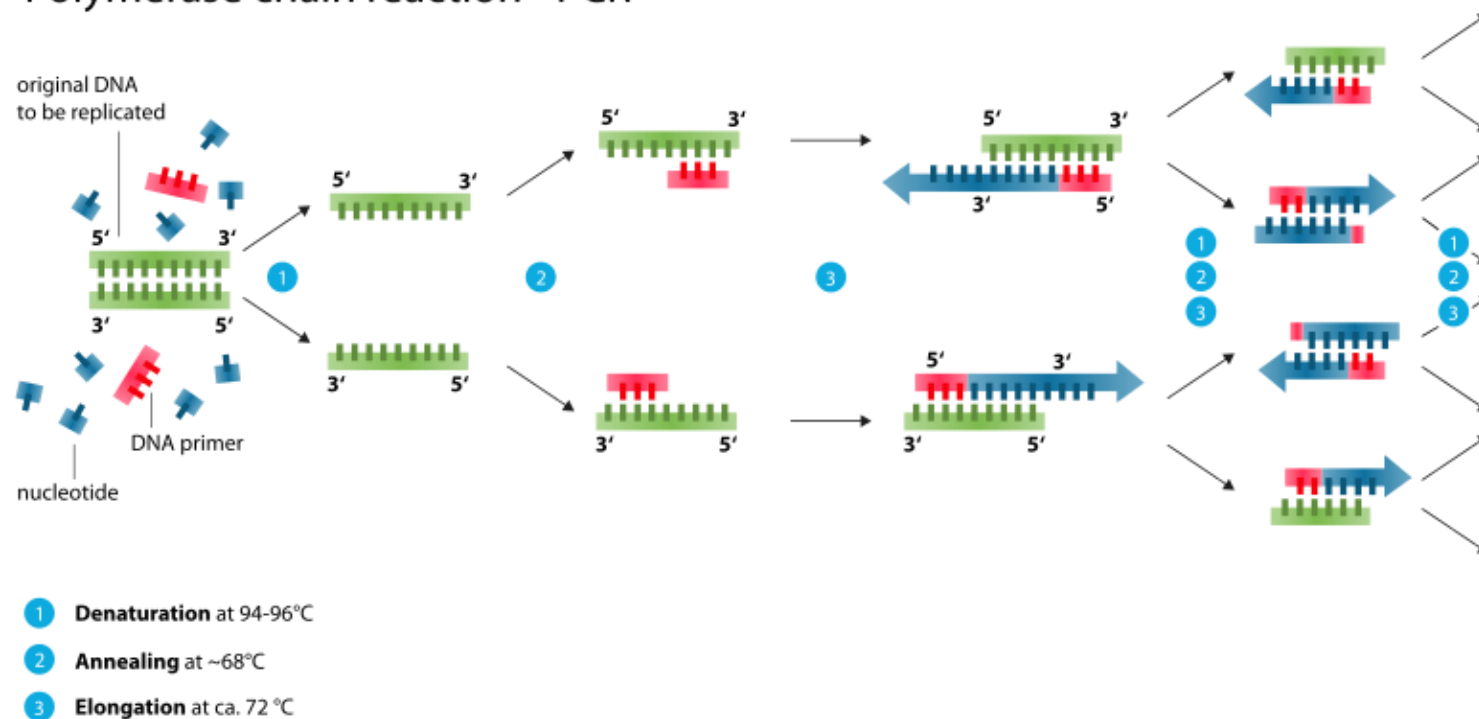
DGGE.

Real-Time PCR.

Secvențiere.

ADN și ARN non-self.

## Polymerase chain reaction - PCR



# Biologie Celulara si Moleculara

## **Modul Biologie celulara:**

Notiuni microscopie

Evaluare organite celulare;

Culturi de celule;

## **Modul Biologie moleculara:**

Izolarea ADN și ARN;

Amplificarea ADN/ARN

Electroforeza

Tehnici de detectare a mutațiilor:

ASO.

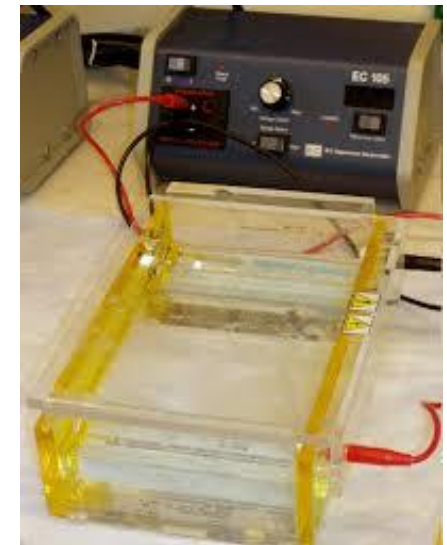
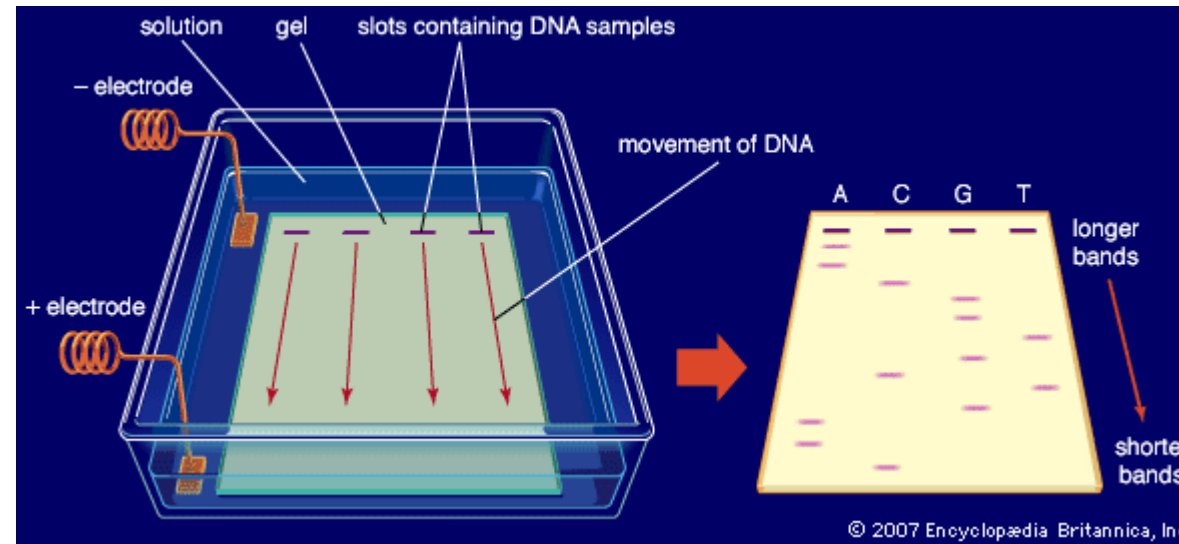
RFLP.

DGGE.

Real-Time PCR.

Secvențiere.

ADN și ARN non-self.



# Biologie Celulara si Moleculara

## **Modul Biologie celulara:**

Notiuni microscopie

Evaluare organite celulare;

Culturi de celule;

## **Modul Biologie moleculara:**

Izolarea ADN și ARN;

Amplificarea ADN/ARN

Electroforeza

Tehnici de detectare a mutațiilor:

ASO.

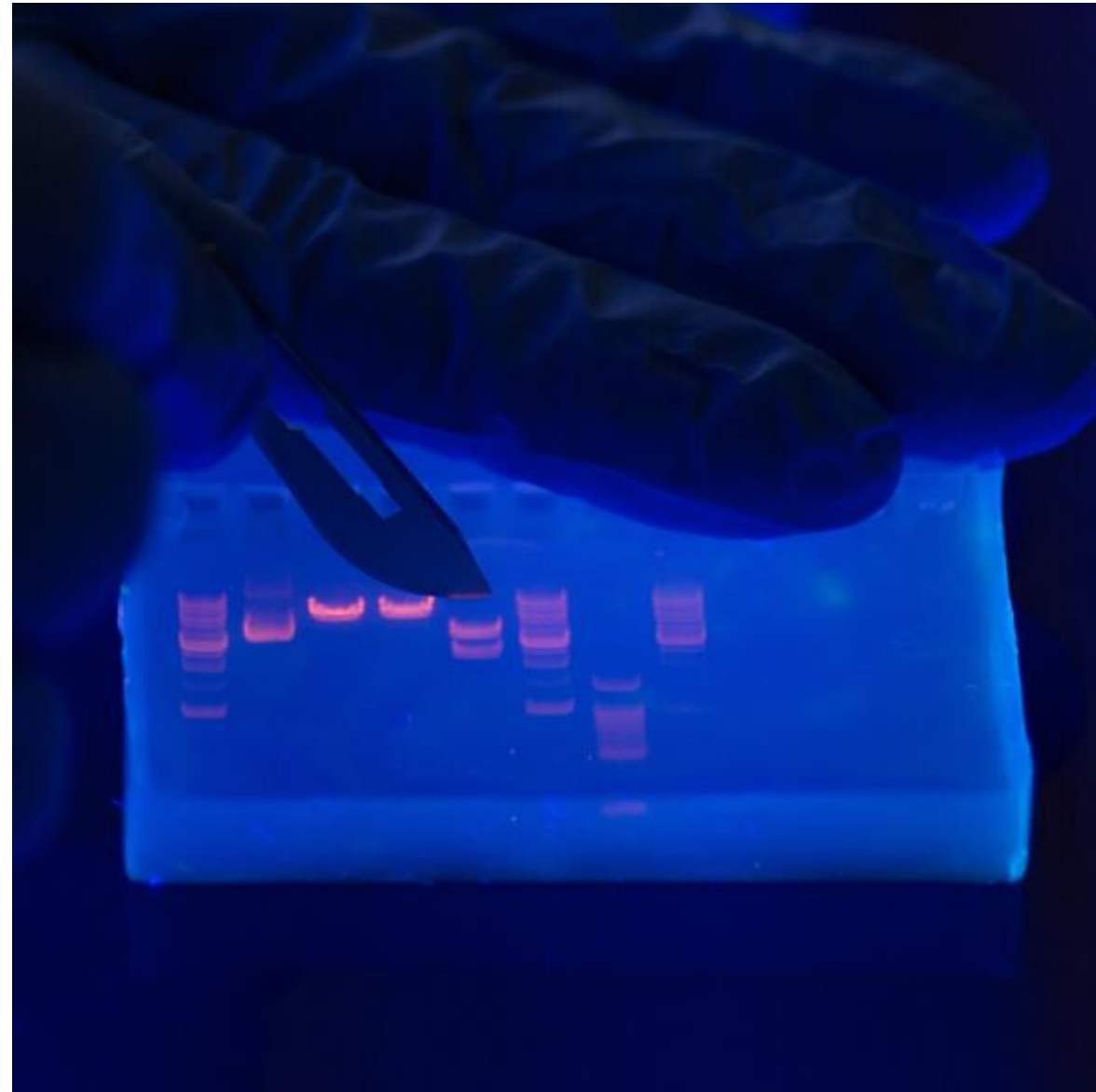
RFLP.

DGGE.

Real-Time PCR.

Secvențiere.

ADN și ARN non-self.



# Biologie Celulara si Moleculara

## **Modul Biologie celulara:**

Notiuni microscopie

Evaluare organite celulare;

Culturi de celule;

## **Modul Biologie moleculara:**

Izolarea ADN și ARN;

Amplificarea ADN/ARN

Electroforeza

Tehnici de detectare a mutațiilor:

ASO.

RFLP.

DGGE.

Real-Time PCR.

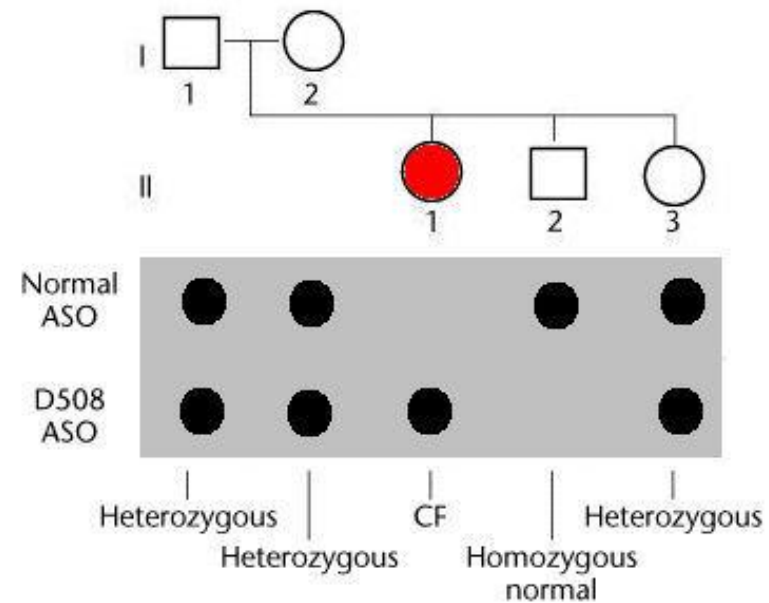
Secvențiere.

ADN și ARN non-self.

**Cystic Fibrosis allele  $\Delta 508$  has 3bp deletion [AGA]**

ASO for normal DNA 5' CACCAAAGATGATATTTTC-3'

ASO for DNA sequence of  $\Delta 508$  mutation 5' CACCAATGATATTTTC-3'



# Biologie Celulara si Moleculara

## **Modul Biologie celulara:**

Notiuni microscopie

Evaluare organite celulare;

Culturi de celule;

## **Modul Biologie moleculara:**

Izolarea ADN și ARN;

Amplificarea ADN/ARN

Electroforeza

## **Tehnici de detectare a mutațiilor:**

ASO.

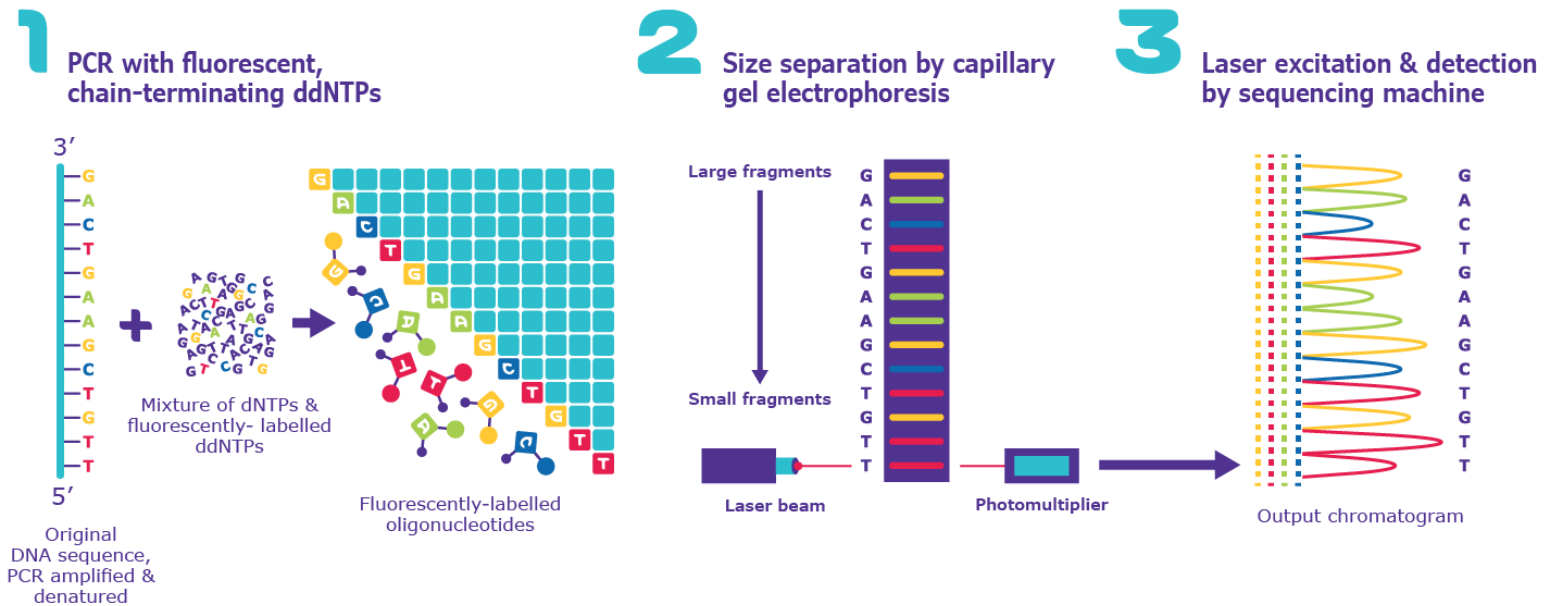
RFLP.

DGGE.

Real-Time PCR.

Secvențiere.

ADN și ARN non-self.



# Biologie Celulara si Moleculara

## Modul Biologie celulara:

Notiuni microscopie

Evaluare organite celulare;

Culturi de celule;

## Modul Biologie moleculara:

Izolarea ADN și ARN;

Amplificarea ADN/ARN

Electroforeza

Tehnici de detectare a mutațiilor:

ASO.

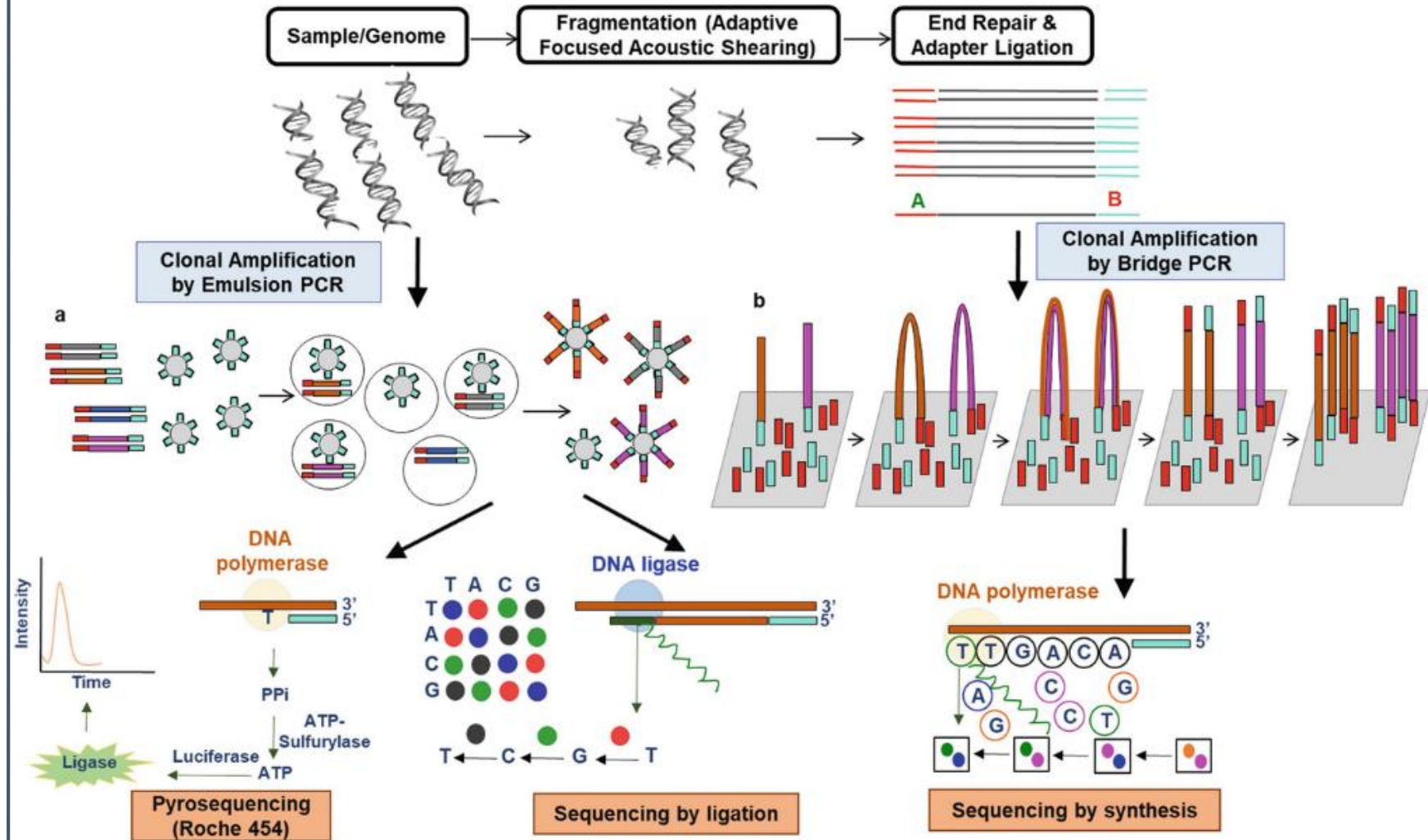
RFLP.

DGGE.

Real-Time PCR.

Secvențiere.

ADN și ARN non-self.





## Biologie Celulara si Moleculara

### **Modul Biologie celulara:**

Notiuni microscopie  
Evaluare organite celulare;  
Culturi de celule;

### **Modul Biologie moleculara:**

Izolarea ADN și ARN;  
Amplificarea ADN/ARN  
Electroforeza  
Tehnici de detectare a mutațiilor:  
ASO.  
RFLP.  
DGGE.  
Real-Time PCR.  
Secvențiere.

ADN și ARN non-self.

