



BIOLOGIE

CELULARA SI MOLECULARA

LP05. Metode de analiza a acizilor nucleici. Principii.



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.

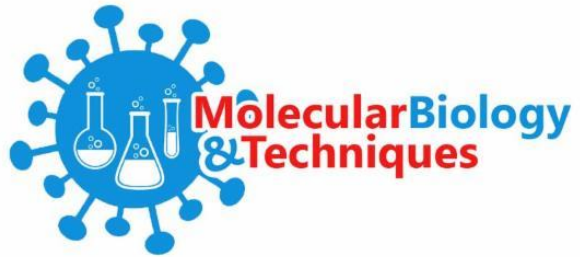
DGGE.

Real-Time PCR.

Secvențiere.

ADN și ARN non-self.

Metode de analiza a acizilor nucleici. Principii.



A. Clonare/amplificare selectiva ADN

- a. celulara/in vivo
- b. acelulara/in vitro – PCR

B. Analiza/detectia specifica a unei secvente

B1. Tehnici bazate pe hibridizare

- a. Southern blotting pentru ADN
- b. Northern blotting pentru ARN
- c. sonde oligonucleotidice specific (ASO)
- d. hibridizare in situ – FISH
- e. sonde pentru ADN/ARN exogen

B2. Secventiere ADN

Metode de analiza a acizilor nucleici. Principii.

A. Clonare/amplificare selectiva ADN

a. **celulara/in vivo**

b. acelulara/in vitro – PCR

B. Analiza/detectia specifica a unei secvente

B1. Tehnici bazate pe hibridizare

a. Southern blotting pentru ADN

b. Northern blotting pentru ARN

c. sonde oligonucleotidice specific (ASO)

d. hibridizare in situ – FISH

e. sonde pentru ADN/ARN exogen

B2. Secventiere ADN

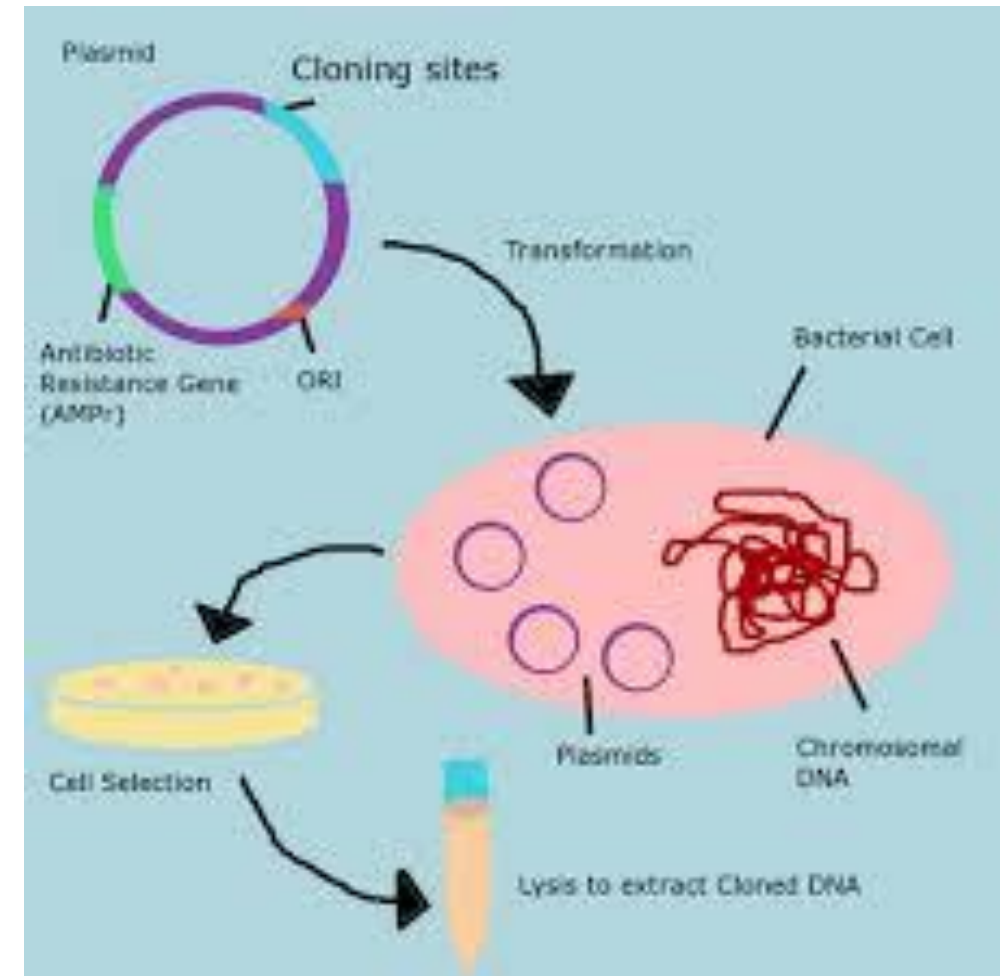
Etapele clonarii celulare

1. formarea ADN recombinant

2. transformare

3. amplificare

4. izolare clone





Cloning in a Plasmid Vector



Metode de analiza a acizilor nucleici. Principii.

A. Clonare/amplificare selectiva ADN

a. celulara/in vivo

b. **acelulara/in vitro – PCR**

B. Analiza/detectia specifica a unei secvente

B1. Tehnici bazate pe hibridizare

a. Southern blotting pentru ADN

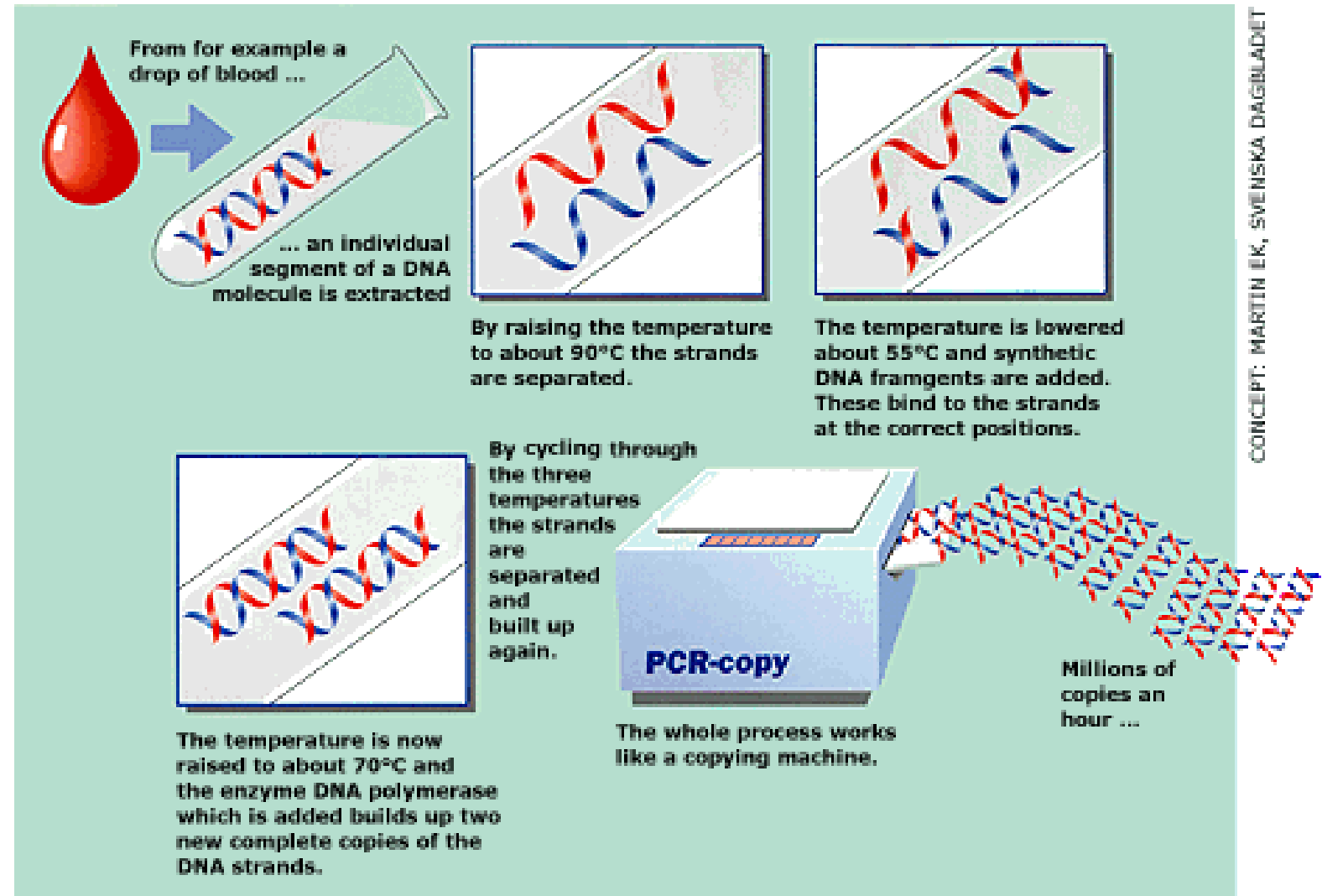
b. Northern blotting pentru ARN

c. sonde oligonucleotidice specific (ASO)

d. hibridizare in situ – FISH

e. sonde pentru ADN/ARN exogen

B2. Secventiere ADN



Metode de analiza a acizilor nucleici. Principii.

A. Clonare/amplificare selectiva ADN

a. celulara/in vivo

b. **acelulara/in vitro – PCR**

B. Analiza/detectia specifica a unei secvente

B1. Tehnici bazate pe hibridizare

a. Southern blotting pentru ADN

b. Northern blotting pentru ARN

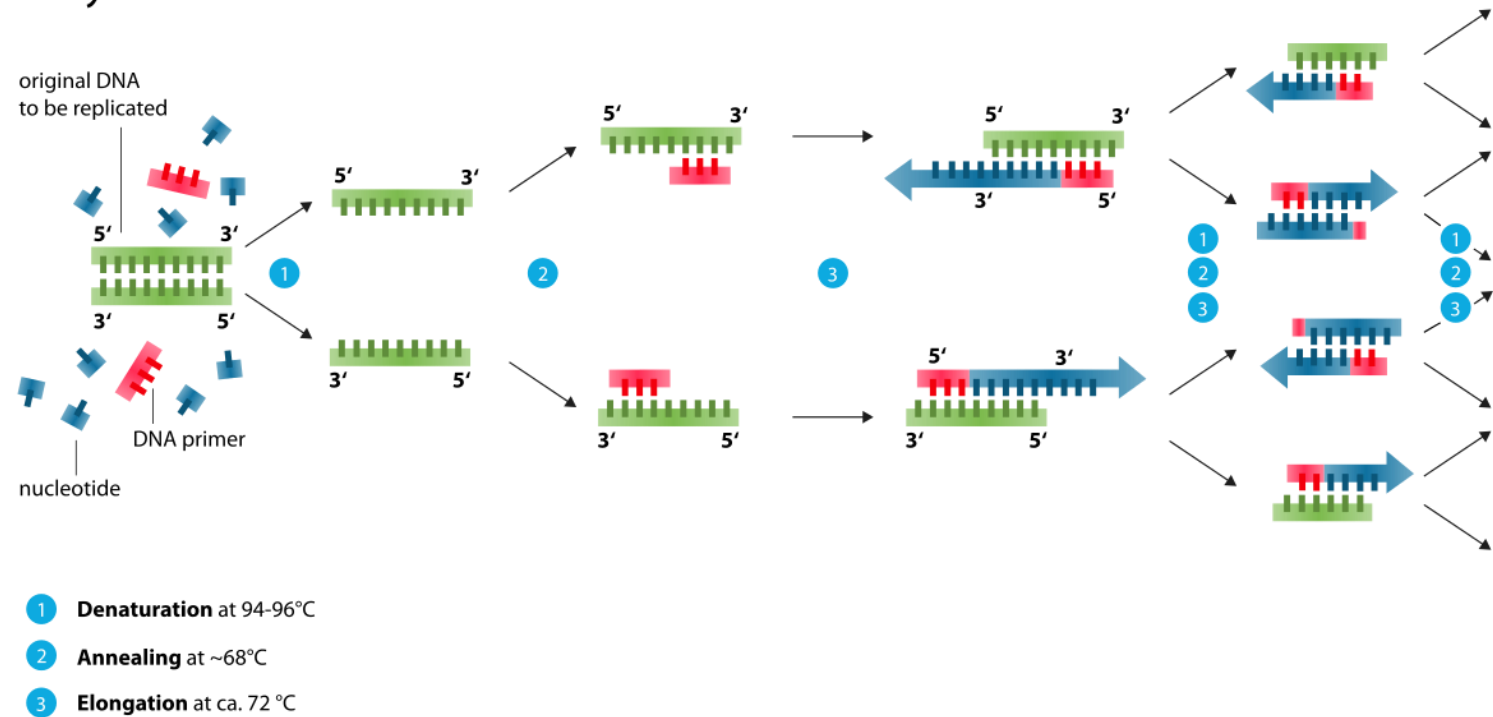
c. sonde oligonucleotidice specific (ASO)

d. hibridizare in situ – FISH

e. sonde pentru ADN/ARN exogen

B2. Secventiere ADN

Polymerase chain reaction - PCR





Metode de analiza a acizilor nucleici. Principii.

A. Clonare/amplificare selectiva ADN

- a. celulara/in vivo
- b. acelulara/in vitro – PCR

B. Analiza/detectia specifica a unei secvente

B1. Tehnici bazate pe hibridizare

- a. Southern blotting pentru ADN
- b. Northern blotting pentru ARN
- c. sonde oligonucleotidice specific (ASO)
- d. hibridizare in situ – FISH
- e. sonde pentru ADN/ARN exogen

B2. Secventiere ADN

Hybridisation

Metode de analiza a acizilor nucleici. Principii.

A. Clonare/amplificare selectiva ADN

a. celulara/in vivo

b. acelulara/in vitro – PCR

B. Analiza/detectia specifica a unei secvente

B1. Tehnici bazate pe hibridizare

a. **Southern blotting pentru ADN**

b. **Northern blotting pentru ARN**

c. sonde oligonucleotidice specific (ASO)

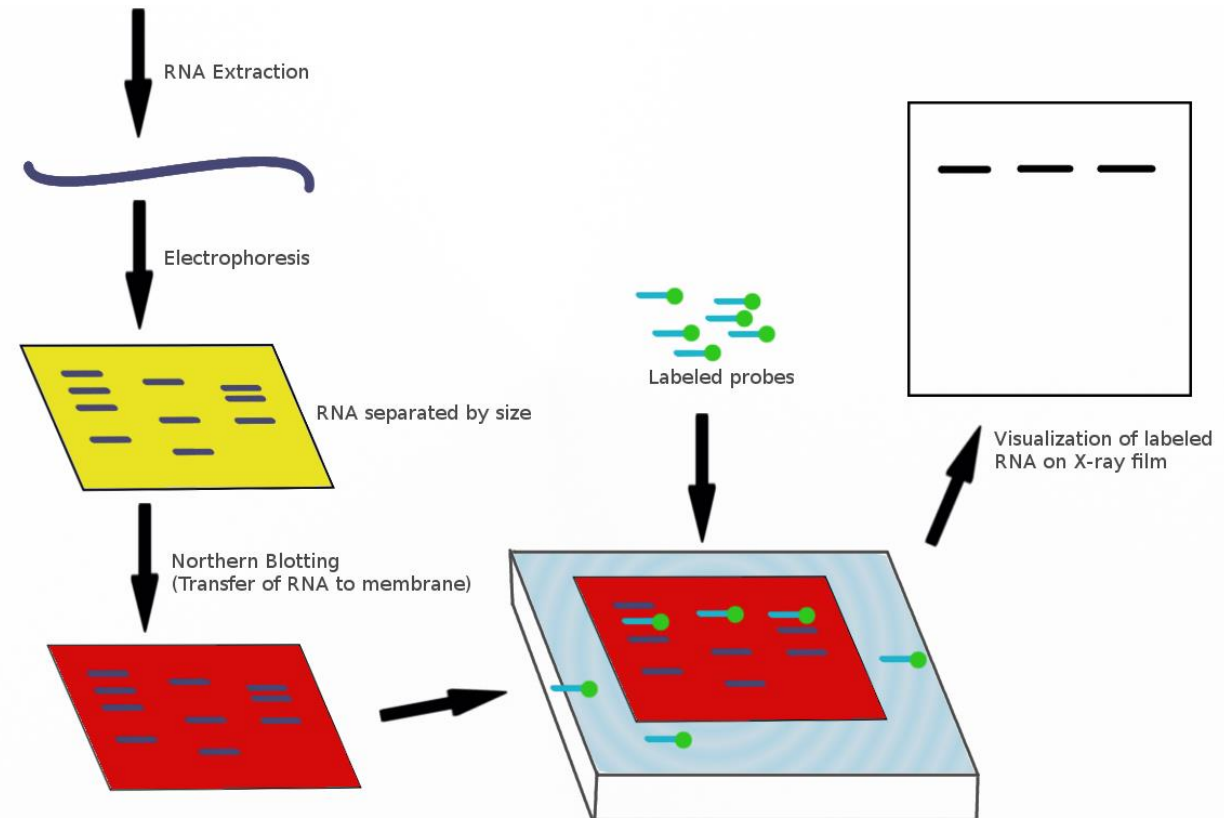
d. hibridizare in situ – FISH

e. sonde pentru ADN/ARN exogen

B2. Secventiere ADN

Etapele tehnicilor de transfer

- digestie enzimatica cu enzima de restrictive
- electroforeza in gel de agaroză
- transfer catre membrana de nicroceluloza
- hibridizare cu sonda marcata





Organism A



Organism B



Organism C



Metode de analiza a acizilor nucleici. Principii.

A. Clonare/amplificare selectiva ADN

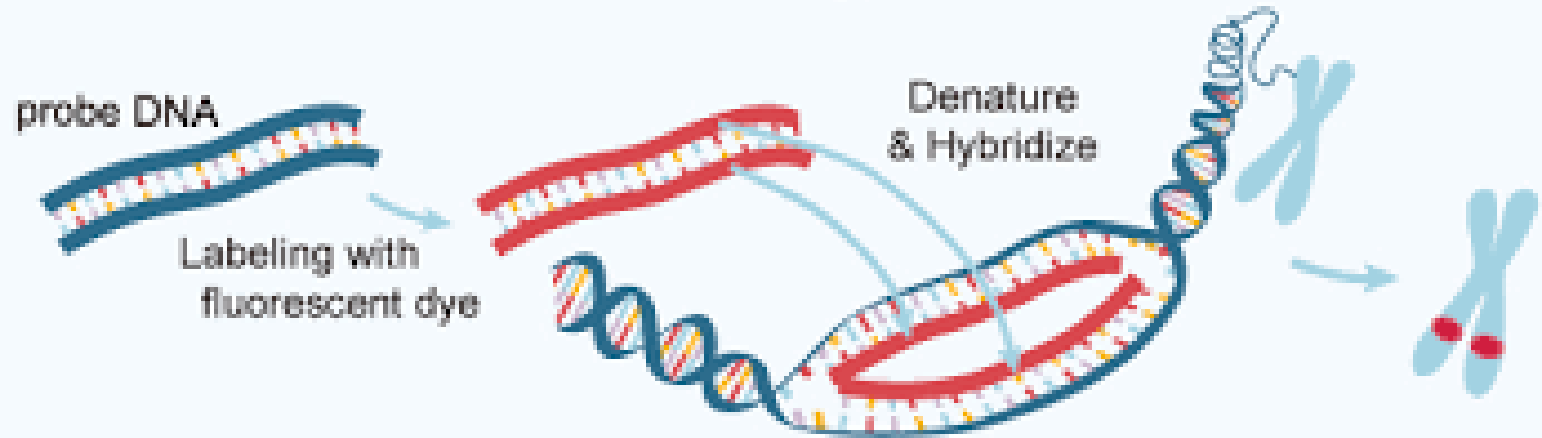
- a. celulara/in vivo
- b. acelulara/in vitro – PCR

B. Analiza/detectia specifica a unei secvente

- B1. Tehnici bazate pe hibridizare
 - a. Southern blotting pentru ADN
 - b. Northern blotting pentru ARN
 - c. sonde oligonucleotidice specific (ASO)
 - d. **hibridizare in situ – FISH**
 - e. sonde pentru ADN/ARN exogen

B2. Secventiere ADN

Fluorescence In Situ Hybridization



Metode de analiza a acizilor nucleici. Principii.

A. Clonare/amplificare selectiva ADN

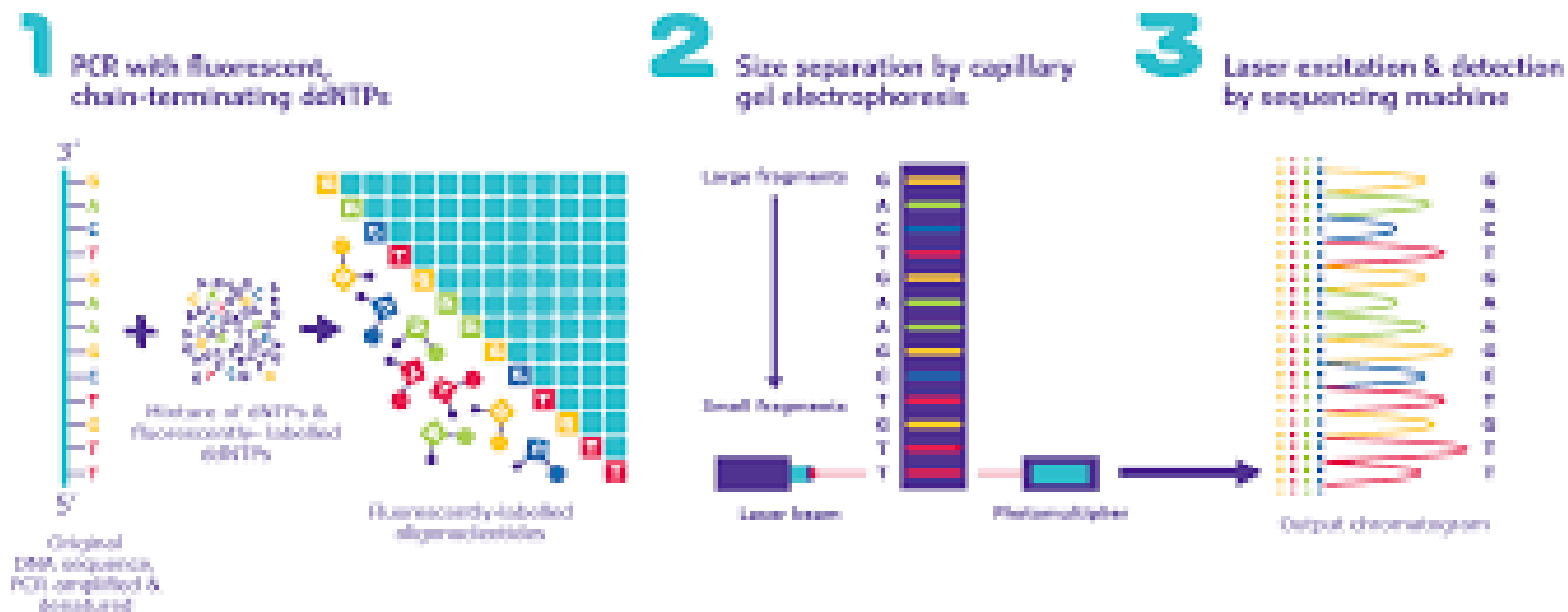
- a. celulara/in vivo
- b. acelulara/in vitro – PCR

B. Analiza/detectia specifica a unei secvente

B1. Tehnici bazate pe hibridizare

- a. Southern blotting pentru ADN
- b. Northern blotting pentru ARN
- c. sonde oligonucleotidice specific (ASO)
- d. hibridizare in situ – FISH
- e. sonde pentru ADN/ARN exogen

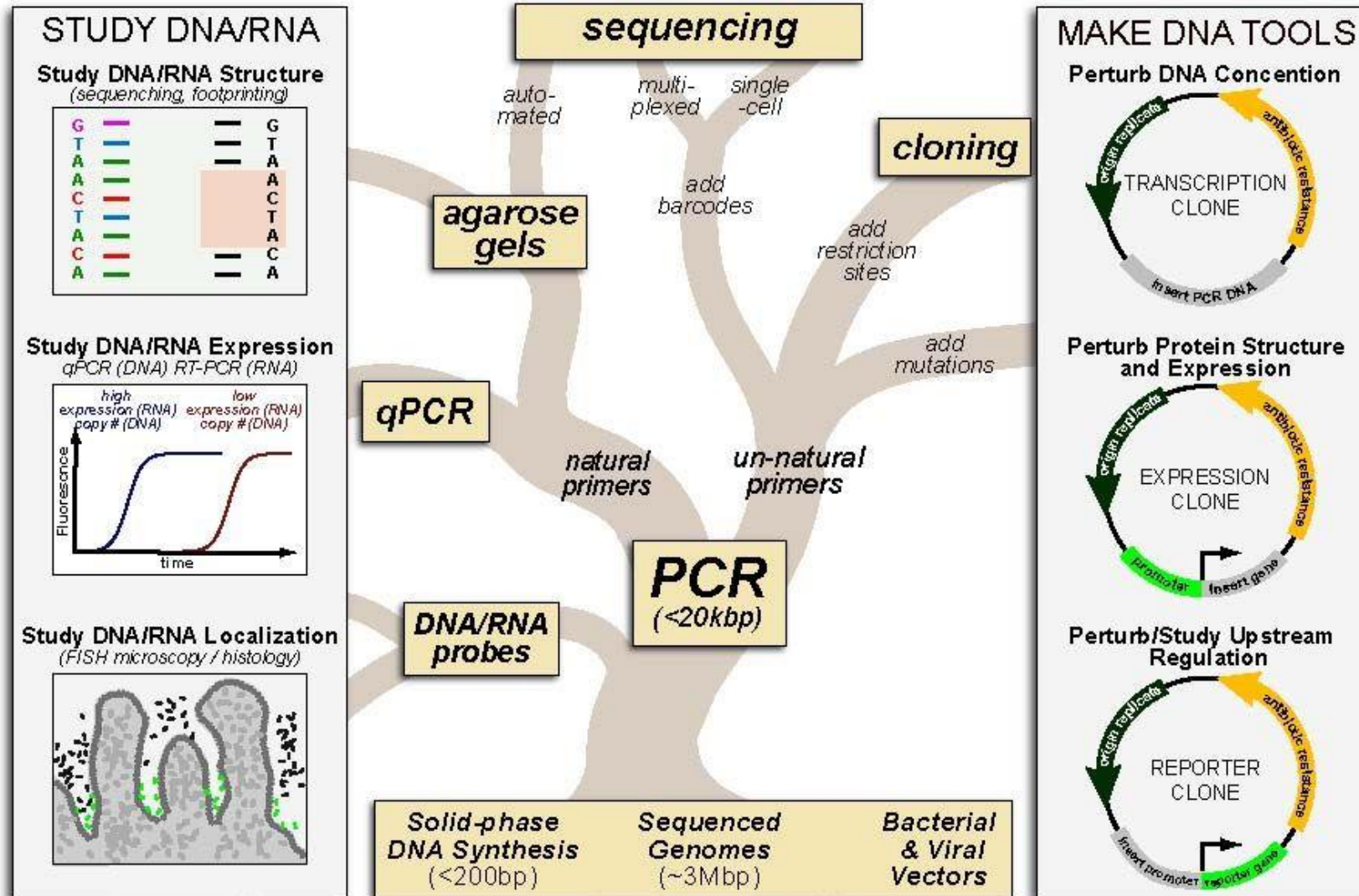
B2. Secventiere ADN





DNA Sequencing

The "Family Tree" of Molecular Biology Methods



DISCUȚII

