

# Tehnici de Biologie Moleculară

**20.11.2024 – 10-12**

**Curs I – Introducere. Ce este Biologia Moleculară?**

## Titular cursuri:

- Prof. Dr. Habil. Marius Mihășan, corp B, Facultatea de Biologie, demisol I, sala B228  
[marius.mihasan@uaic.ro](mailto:marius.mihasan@uaic.ro)

## Titular LP:

- Lab. Med. - Asistent Dr. Răzvan-Ștefan Boianțiu, corp B, Facultatea de Biologie, demisol I, sala B226
- BMC - Prof. Dr. Habil. Marius Mihășan, corp B, Facultatea de Biologie, demisol I, sala B228

**BIOLOGY FACULTY** ALEXANDRU IOAN CUZA UNIVERSITY OF IASI, ROMANIA

IDENTIFICATION AND CHARACTERIZATION OF  
**BIOLOGICAL ACTIVE MOLECULES - BioActive**

Home People Research Publications Collaborations Media Contact

### Welcome

to the website of the "Identification and Characterization of Biological Active Molecules" or, in short, "BioActive" research group.

### About Us

The group is based at the Faculty of Biology, Alexandru Ioan Cuza University of Iasi, Romania. It consists of six academia members and researchers, two technicians as well as students and Ph.D's which share common research interests. The group focuses on biological active molecules with potential applications in biotechnology and this implies the:

- › isolation
- › identification
- › characterization
- › study of biological effects in terms of: neurological effects, cytotoxicity, oxidative stress, antimicrobial activity.

Group's profile on ERRIS - Engage in the Romanian Research Infrastructures System

### News

- › 4.01.2021 - New PCE research grant started - [details](#)
- › September 26-27, 2019 - ANNUAL INTERNATIONAL CONFERENCE of the ROMANIAN SOCIETY of BIOCHEMISTRY and MOLECULAR BIOLOGY - co-organized by group members [web-page](#)
- › April 4-5 - 5th @RbBioInfo seminar *Bioinformatics tools for exploring protein biology* hosted by the BioActive group at the Biology Department - Full Program is [here](#).
- › 01.2019 - New **TE Grant** funded by UEFISCDI and coordinated by group members
- › See latest news and science gossip on the groups new [Facebook page](#)
- › 7.11.2017 - Open PhD position available - [details](#)
- › 08.2017 - New **PEF Grant** funded by UEFISCDI and coordinated by group members
- › 13.12.2016 - **Lecture - MICROBIAL BIOTECHNOLOGY, NWU. WHO WE ARE - Olubucola Oluranti Babalola**, Senior Lecturer, Faculty of Agriculture, Science and Technology, North-West University, South Africa, 13:00, B-339
- › **7.11.2016 - Lecture on Applications Of Mass Spectrometry For Biomedical Research, Assoc. Prof. Costel C. Darie** on 11-11-2016, 1:00 P.M., B339

Contact

<http://cercetare.bio.uaic.ro/grupuri/bioactive/index.html>

**BioActive research group**  
922 likes · 1.1K followers

See dashboard Edit Advertisements

Posts About Mentions Reels Photos Videos More

### Intro

The group is based at the Faculty of Biology, Alexandru Ioan Cuza University of Iasi, Romania. It consists of several academia members and researchers, technicians as well as students and Ph.D's which share common research interests.

**Edit bio**

- Page: Science Website
- Carol I Blvd., No. 20A, Biology Department, Alexandru Ioan Cuza University of Iasi, Iasi, Romania
- +40 232 201 102
- marius.mihasan@uaic.ro
- cercetare.bio.uaic.ro/grupuri/bioactive/index.html

**Promote Website**

**Edit details**

**Add featured**

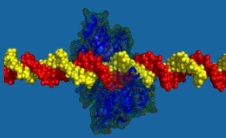
### Photos

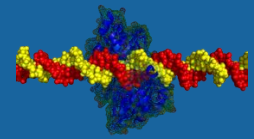
See all photos

Some might be wondering why we release 3D printed models more rarely now. Well, for once, the lab and many other things is keeping us quite busy. And we are focusing on larger and more complex structures now. As is the structure from Salmonella presented here. As part of their pathogenic strategy, these bacteria inject several dozen types of effector proteins using a molecular needle - the injectosome. These injected proteins disable the cell's defenses and... [See more](#)

9

 [@BioActive.bio.uaic.ro](https://www.facebook.com/BioActive.bio.uaic.ro)



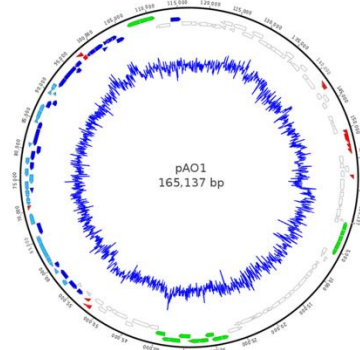
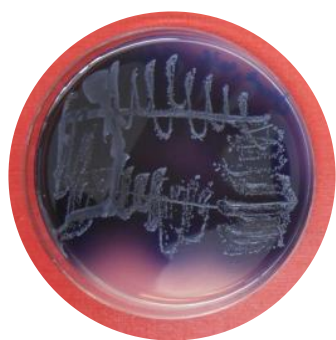


# Experiența în cercetare și educație

Cercetător din 2004, cadru didactic din 2009;

Teme de interes:

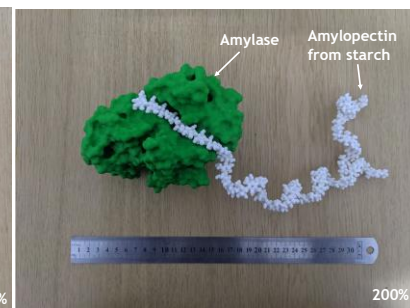
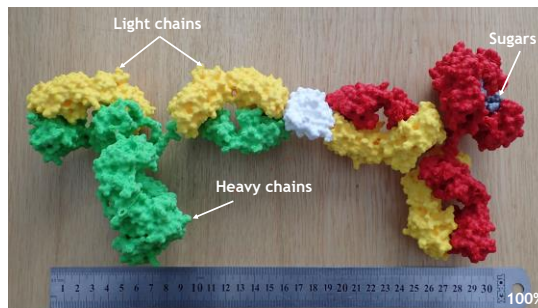
- organizarea moleculara și biologia megaplasmidul pAO1, în special în legatură cu mecanismele de protecție împotriva stresului oxidativ generat de metabolizarea nicotinei, metabolismul glucidelor și aplicațiile biotehnologice ale acestor căi metabolice.



Lucrarea cea mai nouă:

Lucrarea cea mai importantă:

- fabricarea de modele moleculare folosind tipărirea 3D.



Lucrarea cea mai nouă:

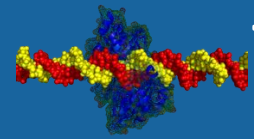
Resurse educaționale dezvoltate:

<https://link.springer.com/article/10.1186/s12864-023-09644-3>

<https://www.nature.com/articles/s41598-018-34687-y>

<https://doi.org/10.1002/bmb.21493>

<https://modele moleculare.ro/>



## Cursuri necesare:

- Chimie generală – organică și anorganică
- Biochimie generală
- Genetică generală

## Cursuri utile:

- Controlul expresiei genice
- Tehnologia ADN recombinant



- Definiții și valori esențiale pentru înțelegerea conținutului



- Clasificări, valori și exemple importante



- Informații accesorii, utile dar ne-esențiale pentru înțelegerea conținutului

Home

Cercetare

Didactic

ro / en

## Activitate didactica

### Cursuri

Proteomică  
BABS  
SMMI  
Biochimie  
Chimie generala  
Chimie anorg  
Chimia mediului

### Lucrari practice

Chimie generala  
Chimia mediului  
Chimie anorg.

### Licenta/Master

## Cursuri

### Scoala Doctorala de Biologie

Cursuri finalizate.

**Bioinformatică aplicată în Biologia structurală** - Biochimie An III, Sem. II [Fișa de prezentare a disciplinei.](#)

Curs 1	Curs 2	Curs 3	Curs 4	Curs 5	Curs 6	Curs 7
Curs 8	Curs 9	Curs 10	Curs 11	Curs 12	Curs 13	Curs 14
<a href="#">Joi, 9.04.2020, 10:00</a>						

### Seminarii

1	2	3	4	5	6	7
8	9	10	11	12	13	14

### Biochimie

 - Biochimie An I, Sem. II [Fișa de prezentare a disciplinei](#)

Rezultate examinare.

Curs 1	Curs 2	Curs 3	Curs 4	Curs 5	Curs 6	Curs 7
Curs 8	Curs 9	Curs 10	Curs 11	Curs 12	Curs 13	Curs 14

### Proteomică

 Master Genetică Moleculară, An I, Sem II, [Fișa de prezentare a disciplinei](#)

Curs 1	Curs 2	Curs 3	Curs 4	Curs 5	Curs 6	Curs 7
--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------



## FIȘĂ a DISCIPLINEI

## 1. Date despre program

1.1 Instituția de învățământ superior	Universitatea "Alexandru Ioan Cuza" din Iași
1.2 Facultatea	Facultatea de Biologie
1.3 Departamentul	Biologie
1.4 Domeniul de studii	Biologie
1.5 Ciclul de studii	II
1.6 Programul de studii / Calificarea	Laborator Medical

## 2. Date despre disciplină

2.1 Denumirea disciplinei	TEHNICI DE BIOLOGIE MOLECULARĂ						
2.2 Titularul activităților de curs	Marius Mihăsan, Prof. Dr. Habil.						
2.3 Titularul activităților de laborator	Marius Mihăsan, Prof. Dr. Habil.						
2.4 An de studiu	I	2.5 Semestru	II	2.6 Tip de evaluare	E	2.7 Regimul disciplinei	OB

\* OB – Obligatoriu / OP – Opțional

## 3. Timpul total estimat (ore pe semestru și activități didactice)

3.1 Număr de ore pe săptămână	4	din care:	3.2 curs	2	3.3 laborator	4 la 2 saptă mani
3.4 Total ore din planul de învățământ	56	din care:	3.5 curs	28	3.6 laborator	28
Distribuția fondului de timp						ore
Studiu după manual, suport de curs, bibliografie și altele						48
Documentare suplimentară în bibliotecă, pe platformele electronice de specialitate și pe teren						14
Pregătire seminarii/laboratoare, teme, referate, portofolii și eseuri						22
Tutoriat						6
Examinări						4
Alte activități .....						
3.7 Total ore studiu individual						94
3.8 Total ore pe semestru						56
3.9 Număr de credite						6

## 4. Precondiții (dacă este cazul)

4.1 De curriculum	Chimie generală; Biochimie; Biofizică; Biologie Celulară. Metabolismul proteinelor; Microbiologie; Evoluționism;
4.2 De competențe	Competențe de comunicare T.I.C;

## 5. Condiții (dacă este cazul)

5.1 De desfășurare a cursului	Sala dotată cu calculator și videoproiector Studentii vor primi bibliografie orientativă pe care trebuie să o consulte. Studentilor li se recomandă frecventarea cursurilor
5.2 De desfășurare a seminarului/laboratorului	Lucrările practice se vor desfășura în laboratorul B244. Atunci când este necesar se vor deplasa în laboratoarele B228 și B224 pentru a accesa instrumentele și aparatura existentă (termocicl, sisteme de electroforeză orizontală și verticală, sistem Western-



Blot, sistem de fotografiere geluri, sistem de electroporare, liofilizator, HPLC, Speed-Vac). În cazul seminarilor cu componentă de Bioinformatică, studenții se vor deplasa în una sala B460 dotată cu rețea de calculatoare. Prezența la lucrările practice/seminar este obligatorie

## 6. Competențe specifice acumulate

Competențe profesionale	Operarea cu noțiuni, concepte, legități și principii specifice biologiei moleculare; Explicarea mecanismelor separării electroforetice a moleculelor; Stabilirea dimensiunii unei molecule de ADN sau a unei proteine pe baza unei analize electroforetice; Enumerarea elementelor componente necesare ale unui vector plasmidial utilizat pentru supraexpresia proteinelor; Enumerarea tag-urilor utilizate în purificarea proteinelor recombinante; Explicarea principiilor de bază a secvențierii proteinelor prin spectrometrie de masă; Analiza și comunicarea informațiilor cu caracter științific.
Competențe transversale	Realizarea responsabilă și eficientă a sarcinilor aferente profesiilor din domeniul biologie cu respectarea principiilor de etică profesională; Identificarea rolului într-o echipă și preluarea responsabilităților corespunzătoare profilului profesional și personal; Dezvoltarea capacității de reflecție critic-constructivă asupra propriului nivel de pregătire profesională în raport cu standardele profesiei; Comunicarea orală și scrisă; Recunoașterea și respectul diversității și multiculturalității;

## 7. Obiectivele disciplinei (din grila competențelor specifice acumulate)

7.1 Obiectivul general	Inițierea studenților în cunoașterea metodelor de bază folosite în biologia moleculară, prin crearea deprinderilor necesare manipulării ADN-ului și proteinelor. Un obiectiv secundar este conștientizarea studenților asupra importanței experimentului științific și a accesului nemijlocit la informația științifică.
7.2 Obiectivele specifice	După ce vor studia această disciplină, cursanții vor putea să: 1. Utilizeze corect terminologia specifică biologiei moleculare; 2. Explice legătura secvență-funcție prin prisma dogmei centrale a biologiei moleculare; 3. Enumere avantajele utilizării tulpinii <i>Escherichia coli</i> ca organism model; 4. Separe molecule de ADN prin electroforeză și să precizeze dimensiunea acestora; 5. Explice etapele clonării unei gene; 6. Descrie etapele purificării unei proteine prin cromatografie de afinitate pentru metale. 7. Identifice secvența unei peptide de pe un spectru MS.

## 8. Conținut

8.1	Curs	Metode de predare	Observații (ore și referințe bibliografice)
1.	Bază azotată; Secvență; ADN; Genă; Proteină; Funcție. Dogma centrală a Biologiei Moleculare	prelegerea interactivă; dezbateră.	1, 2
2.	Noțiuni introductive de inginerie genetică, <i>Escherichia coli</i> ca organism model și instrument în Biologia Moleculară. Vectori utilizați în Biologia Moleculară	prelegerea interactivă; expunerea sistematică; conversația;	1, 2, 3
3	Izolarea acizilor nucleici – ADN plasmidial vs ADN genomic; ADN vs ARN. Electroforeza ADN	prelegerea interactivă; expunerea sistematică; conversația;	1, 2, 3



4	Amplificarea <i>in-vitro</i> a acizilor nucleici	prelegerea interactivă; expunerea sistematică; conversația;	1, 2, 3
5.	Secvențierea acizilor nucleici. Impactul tehnicilor de secvențiere cu randament mare asupra dezvoltării a două „omici”: genomică și transcriptomică	prelegerea interactivă; expunerea sistematică; conversația;	1, 2, 3, 4, 5
6	Analiza computerizată a secvențelor. Formatul FASTA de stocare digitală a secvențelor de nucleotide sau aminoacizi. Omologie vs identitate la nivel de secvență. Alinieri locale vs alinieri globale. Algoritmii din spatele alinierilor BLAST. Baze de date cu secvențe (GenBank, ENSEMBLE, RefSeq)	prelegerea interactivă; expunerea sistematică; conversația;	1, 2, 3, 4, 5
6.	Modificarea moleculelor de ADN: abordări generale pentru clonarea fragmentelor de ADN în vectori, enzime de restricție și modificarea ADN-ului (ligarea, Klenow, fosforilare și defosforilare)	prelegerea interactivă; expunerea sistematică; conversația;	1, 2, 3
7.	Producerea proteinelor recombinante – metode de expresie, tag-uri și tehnici de purificare a proteinelor recombinante	prelegerea interactivă; expunerea sistematică; conversația;	1, 2, 3,
8	Analiza <i>in-vitro</i> a proteinelor – electroforeza, IEF, Cromatografia FPLC și HPLC	prelegerea interactivă; expunerea sistematică; conversația;	1, 2, 3
9	Spectrometria de masă ca principala tehnică în proteomică. Principii de bază de analiză a spectrelor peptidelor – MASCOT.	prelegerea interactivă; expunerea sistematică; conversația;	6, 7
10	Analiza <i>in-silico</i> a proteinelor – predicția proprietăților unei proteine pe baza secvenței de aminoacizi și structuri (PDB).	prelegerea interactivă; expunerea sistematică; conversația;	4, 5
11	Localizarea celulară a proteinelor – Western-blot și tehnici imunologice	prelegerea interactivă; expunerea sistematică; conversația;	1, 2, 3

**Bibliografie****Referințe principale:**

1. Sambrook J, Fritsch E, Maniatis T. 1989. Molecular Cloning - A Laboratory Manual. Cold Spring Harbour Laboratory Press.
2. Coligan, J.E., *Current Protocols in Protein Science* - John Wiley & Sons, LTD., England, 2007
3. Mihasan M., Olteanu Z., Stefan M., *Biologie moleculară – metode experimentale* Ed. Univ. „A.I.Cuza”, Iași, 2012.
4. Mihașan, Marius. 2010. "Basic Protein Structure Prediction for the Biologist: A Review." *Archives of Biological Sciences* 62(4): 857–71.
5. Mihasan, M. 2012. "What in Silico Molecular Docking Can Do for the Bench-Working Biologists?" *J. Biosci* 37(6): 1089–95.
6. Marius Mihașan, Cornelia Babii, Roshanak Aslebagh, Devika Channaveerappa, Emmalyn Dupree, Costel C. Darie, Exploration of nicotine metabolism in *Paenarthrobacter nicotinovorus* pAO1 by microbial proteomics – in *Advancements of Mass Spectrometry in Biomedical Research* Eds. Dr. Alisa G. Woods, Dr. Costel C. Darie, Springer, in press
7. Marius Mihasan, Kelly L. Wormwood, Izabela Sokolowska, Urmi Roy, Alisa G. Woods, and Costel C. Darie, Mass Spectrometry- and Computational Structural Biology-based investigation of proteins and peptides – in *Advancements of Mass Spectrometry in Biomedical Research* Eds. Dr. Alisa G. Woods, Dr. Costel C. Darie, Springer, in press

			(ore și referințe bibliografice)
1.	Norme de protecție a muncii în laboratorul de Biologie Moleculară. Măsurile de biosecuritate. Metode de cultivare a bacteriei <i>Escherichia coli</i>	expunerea, conversația euristică, observarea, demonstrația, exercițiul.	1
2.	Izolarea ADN-ului genomic și a plasmidei pH6EX3 din <i>Escherichia coli</i> . Separarea și evidențierea ADN-ului pe geluri de agaroză.	prelegerea interactivă, demonstrația, observarea, exercițiul.	1, 2
3	Utilizarea amplificării <i>in-vitro</i> a acizilor nucleici pentru detectarea prezenței unor particularități genetice – detecția genei <i>aldh</i> .	experimentul, prelegerea interactivă, demonstrația, observarea, experimentul, exercițiul.	1, 2
4.	Enzimele de restricție și utilizarea lor – liniarizarea plasmidei pH6EX3. Migrarea diferențiată a ADN-ului circular vs ADN-ului liniar pe gelurile de agaroză	experimentul, prelegerea interactivă, demonstrația, observarea, experimentul, exercițiul.	1, 2
5	Supraexpresia în <i>E. coli</i> a proteinei ALDH provenite din <i>Paenarthrobacter nicotinovorus</i> . Detecția nivelului de supraexpresie prin electroforeză	experimentul, prelegerea interactivă, demonstrația, observarea, experimentul, exercițiul.	1-3
6	Purificarea proteinei ALDH prin IMAC.	experimentul, prelegerea interactivă, demonstrația, observarea, experimentul, exercițiul.	1-3
7.	Analiza gradului de puritate a preparatului obținut.	experimentul, prelegerea interactivă, demonstrația, observarea, experimentul, exercițiul.	1-3

**Bibliografie**

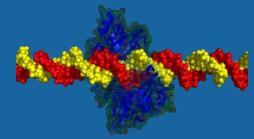
1. Mihasan M., Olteanu Z., Stefan M., *Biologie moleculară – metode experimentale* Ed. Univ. „A.I.Cuza”, Iași, 2012.
2. Sambrook J, Fritsch E, Maniatis T. 1989. Molecular Cloning - A Laboratory Manual. Cold Spring Harbour Laboratory Press.
3. Coligan, J.E., *Current Protocols in Protein Science* - John Wiley & Sons, LTD., England, 2007

**9. Coroborarea conținutului disciplinei cu așteptările reprezentanților comunității, asociațiilor profesionale și angajatorilor reprezentativi din domeniul aferent programului**

**Promovarea acestei discipline asigură absolventului cunoștințe necesare practicării unor meserii precum:** Asistent de cercetare în bacteriologie, microbiologie, biochimie, farmacologie -226305; Asistent de cercetare în biologie - 213137; Biolog - 213114; Expert biolog - 213102; Referent de specialitate biolog - 213104;

**10. Evaluare**

Tip activitate	10.1 Criterii de evaluare	10.2 Metode de evaluare	10.3 Pondere în nota finală (%)
10.4 Curs	- utilizarea corectă a terminologiei științifice specifice biologiei moleculare; - exprimarea clară și logică ideilor;	Examen prin test grilă folosind platforma Moodle	90%



# Standarde minime de performanță



UNIVERSITATEA „ALEXANDRU IOAN CUZA” din IAȘI

PER LIBERTATEM AD VERITATEM

www.uaic.ro

	- descrierea rațională a principiilor principalelor tehnici de biologie moleculară;		
<b>10.5 Seminar / Laborator</b>	- folosirea corespunzătoare a instrumentelor și reactivilor necesare efectuării experimentelor; - aplicarea corectă a cunoștințelor de specialitate în rezolvarea unor probleme practice; - corectitudinea și claritatea notițelor din caietului de laborator privind rezultatele obținute pe parcursul laboratorului;	Examinare prin portofoliu trimis prin e-mail	10%
<b>10.6 Standard minim de performanță:</b> 1. să enumere și să descrie principalele avantaje ale utilizării tulpinii <i>E. coli</i> în biologia moleculară; 2. să identifice dintr-o fotografie dimensiunea unui molecule de ADN și natura acesteia (liniar vs circular); 3. să diferențieze o secvență de ADN de una proteică; 4. să enunțe principalele etape necesare clonării unei gene; 3. să explice avantajele și dezavantajele expresiei proteinelor în gazde heteroloage; 4. să enumere 5 tag-uri diferite utilizate pentru purificarea proteinelor.			

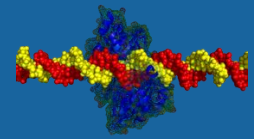
Data completării  
13.10.2020

Titular de curs  
Marius MIHĂȘAN, Prof. Dr. Habil.

Titular de seminar / laborator  
Marius MIHĂȘAN, Prof. Dr. Habil.

Data avizării în departament

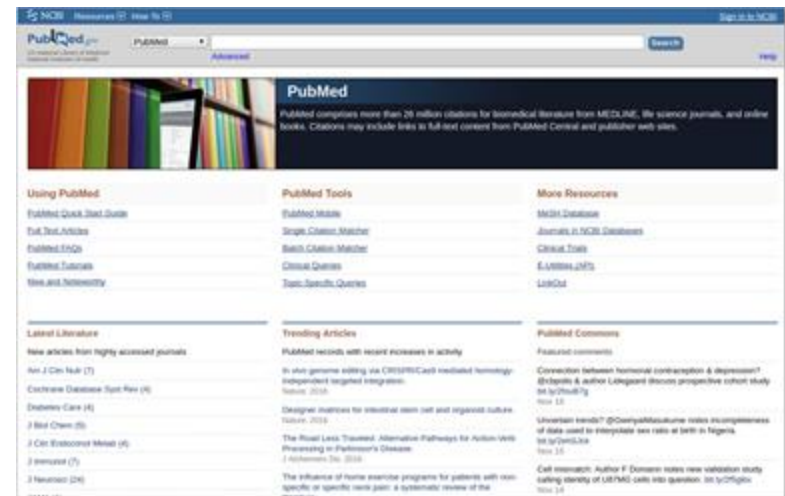
Director de departament  
Șef. Lucr. dr. Elena TODIRAȘCU-CIORNEA



# Forma de evaluare la alegere:

- Examinare în sesiune, minim nota 5. Test grila, 30 întrebări cu răspuns multiplu folosind platforma Moodle
- Prezentarea unui referat pe data de **18.12.2024**.
- Teme – prezentarea unei (sau mai multe, maxim 3) lucrări științifice din reviste de profil (IF cel puțin 3) ce sunt în domeniul cursului. Articolele vor fi identificate de studenți până la data de **04.12.2024**. Articolele pot fi trimise pe mail (marius.mihasan@uaic.ro) pana la aceasta dată și voi evalua articolele identificate. Pe **11.12.2024** se vor stabili cu precizie temele și articolele.

‘NGS methods’, ‘ONT Minlon’, ‘transcriptomics methods’, ‘protein electrophoresis’, ‘DNA isolation’, ‘restriction enzymes’, ‘CRISPR’

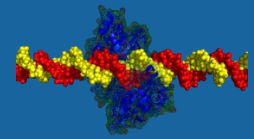


<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>

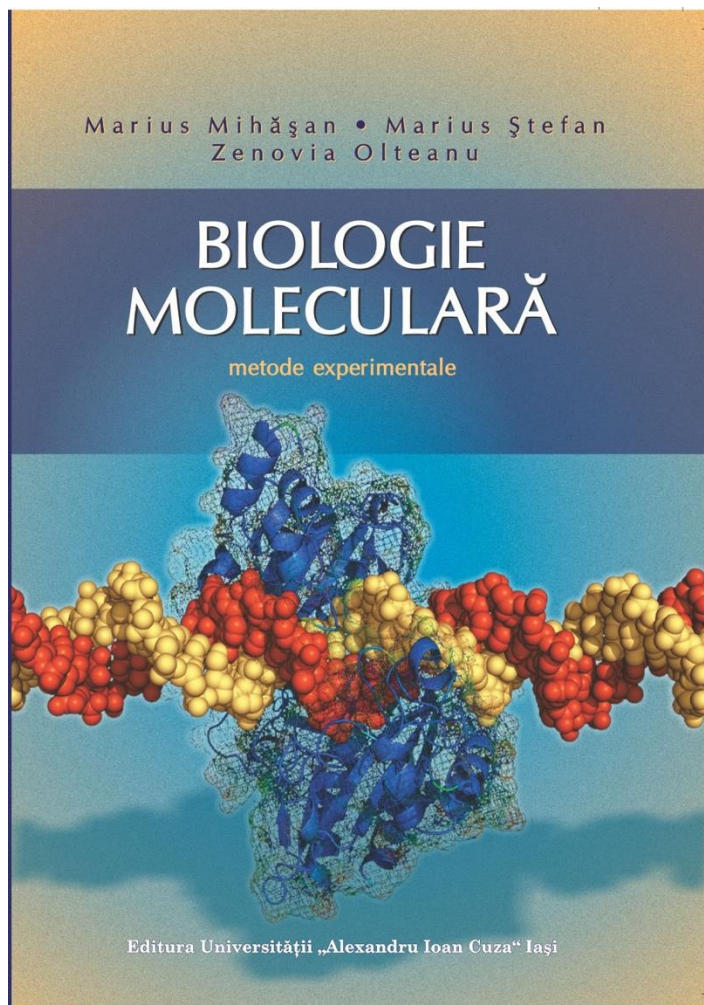
<http://link.springer.com/search?facet-discipline=%22Life+Sciences%22>

<https://www.biomedcentral.com/>

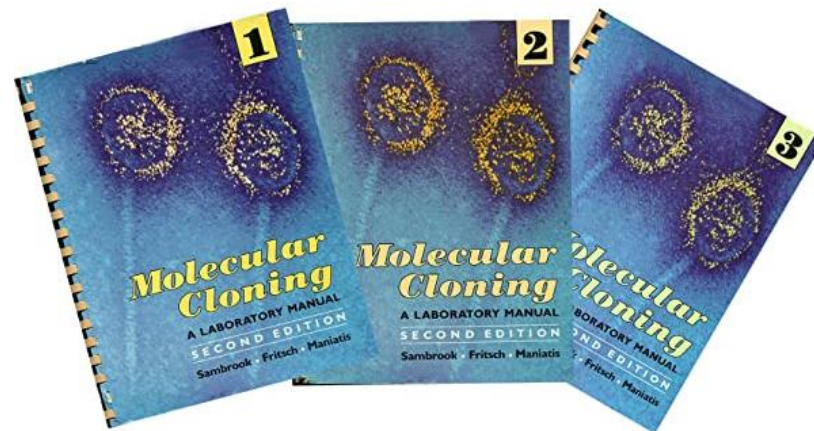




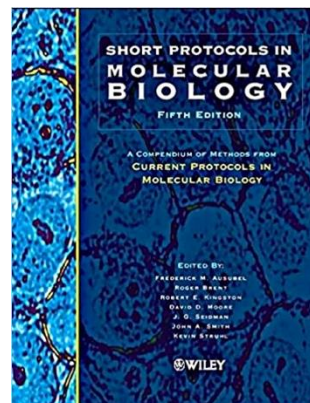
# Bibliografie:



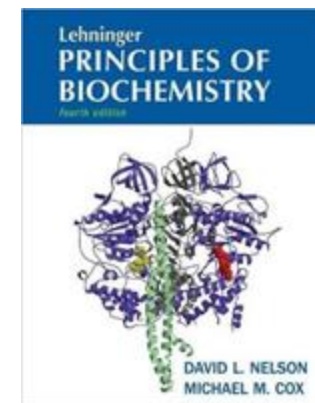
Marius Mihășan • Marius Ștefan Zenovia Olteanu - Biologie Moleculară. Metode experimentale, Editura universității Alexandru Ioan Cuza din Iași; ISBN: 978-9737038166



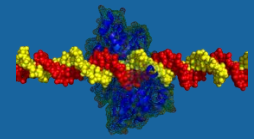
J. Sambrook, E.F. Fritsch, T. Maniatis - Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 2nd, Cold Spring Harbor Laboratory Press; ISBN-13: 978-0879693091



Frederick M. Ausubel, Roger Brent, Robert E. Kingston, David D. Moore, J. G. Seidman, John A. Smith, Kevin Struhl - Short Protocols in Molecular Biology, 5th Edition, Wiley, ISBN-13: 978-0471250920



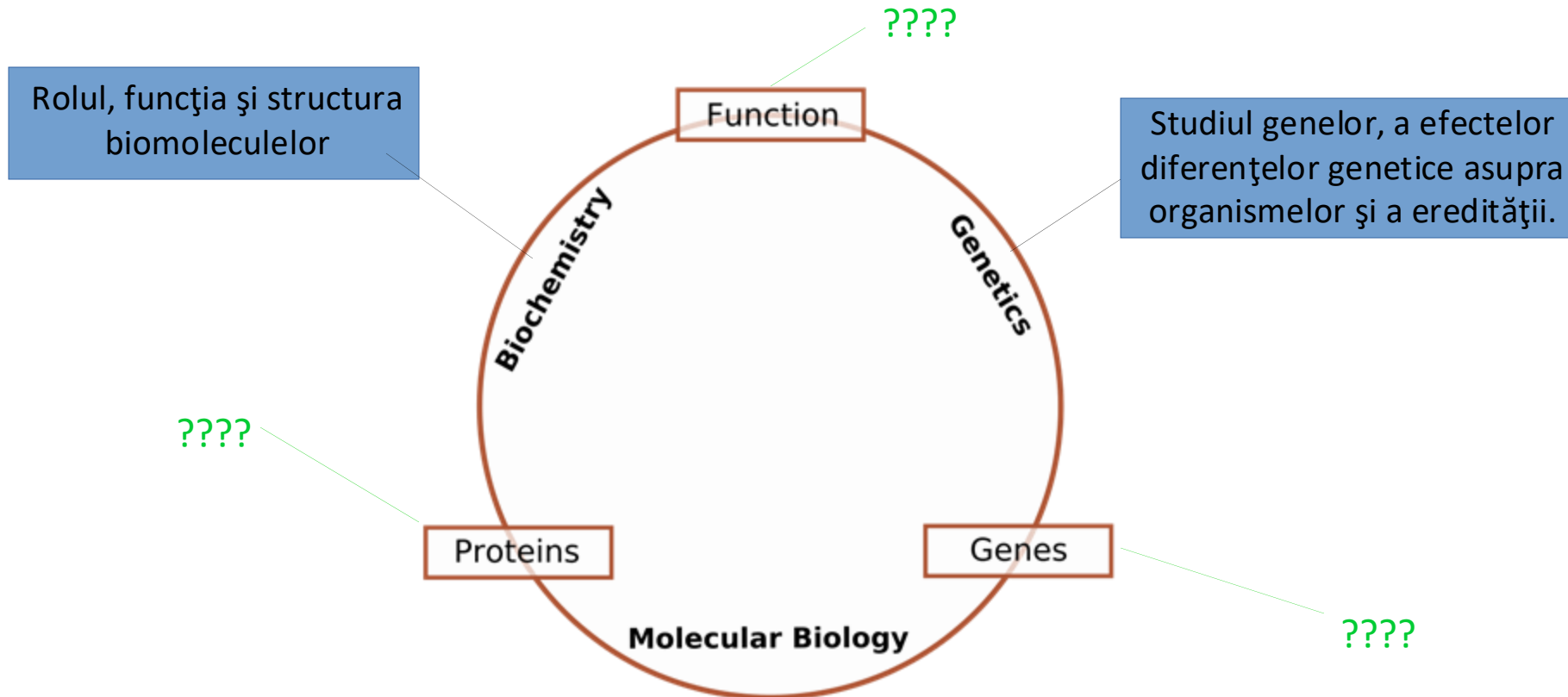
David L. Nelson, Michael M. Cox - Lehninger Principles of Biochemistry, Fourth Edition, W. H. Freeman Publishers; ISBN-13: 978-0716743392, ISBN-10: 0716743396



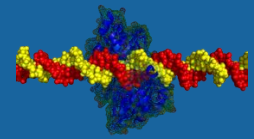
## Biologia moleculară – studiul proceselor biologice la nivel molecular

- studiul **macromoleculor** și **mecanismelor moleculare** ce stau la baza funcționării organismelor vii, precum replicarea, mutageneza sau expresia genică\*.

\*Tabery, James, Monika Piotrowska, and Lindley Darden, "Molecular Biology", *The Stanford Encyclopedia of Philosophy* (Summer 2020 Edition), Edward N. Zalta (ed.), URL = <<https://plato.stanford.edu/archives/sum2020/entries/molecular-biology/>>



Mecanismele moleculare ce stau la baza activității biologice a biomoleculor – replicare, transcriere, transducere și funcții celulare



# Scurtă istorie a dezvoltării biologiei moleculare\*

## Rolul cromozomilor și genelor în ereditate



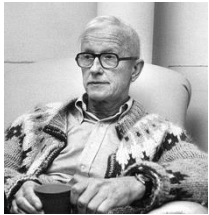
Thomas Hunt Morgan (1866 – 1945), Premiul Nobel în 1933 pentru studiile pe *Drosophila melanogaster*



## Gena ca elementul de bază al vieții

Hermann Joseph Muller (1890 – 1967) – Premiul Nobel în 1946 pentru studiile asupra naturii și dimensiunii genelor folosind efectul mutagen al radiațiilor X

## “The Phage Group” Premiul Nobel în 1969 pentru descoperirile în domeniul replicării și structurii genetice a virusurilor



Max Ludwig Henning Delbrück, (1906 – 1981)

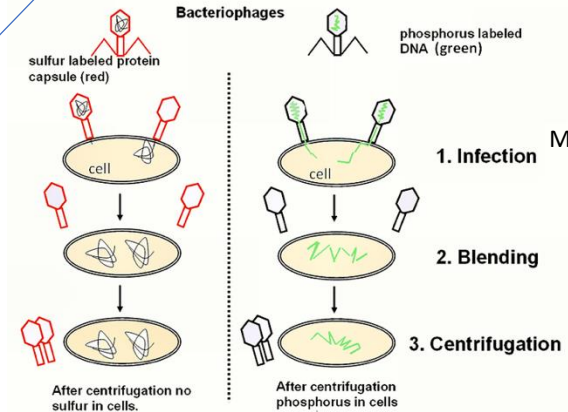


Salvador Edward Luria (1912 - 1991)



Alfred Day Hershey (1908 – 1997)

## Experimentul Hershey-Chase



Martha Cowles Chase (1927 – 2003)

Supportul material al informației genetice este ADN-ul

## 1938 – este introdus termenul de „biologie moleculară”

Warren Weaver – matematician (1894 -1978)

Originile

1953

Perioada clasică

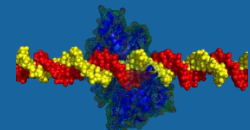
1963

Perioada de expansiune

Anii 70

Era genomică și post-genomică

\*Tabery, James, Monika Piotrowska, and Lindley Darden, "Molecular Biology", *The Stanford Encyclopedia of Philosophy* (Summer 2020 Edition), Edward N. Zalta (ed.), URL = <<https://plato.stanford.edu/archives/sum2020/entries/molecular-biology/>>



# Scurtă istorie a dezvoltării biologiei moleculare\*

## 1953 – Structura dublu helicală a ADN-ului

James Dewey Watson KBE (1928)  
Francis Harry Compton Crick (1916 – 2004)



no. 455 April 25, 1953 NATURE 737  
equipment, and to Dr. G. E. H. Deacon and the captain and officers of R.R.S. *Discovery II* for their part in making the observations.  
\*Young, T. B., Gerani, L., and Zeeva, W. *Phil. Mag.*, 40, 149 (1950).  
†Lipson, H. M., S. M. *Proc. Roy. Soc. Ser. Geophys. Supp.*, 1, 20 (1951).  
‡Lipson, H. M., *Proc. Roy. Soc. Ser. Geophys. Supp.*, 1, 20 (1951).  
§Lipson, H. M., *Proc. Roy. Soc. Ser. Geophys. Supp.*, 1, 20 (1951).  
¶Lipson, H. M., *Proc. Roy. Soc. Ser. Geophys. Supp.*, 1, 20 (1951).

### MOLECULAR STRUCTURE OF NUCLEIC ACIDS

#### A Structure for Deoxyribose Nucleic Acid

WE wish to suggest a structure for the salt of deoxyribose nucleic acid (D.N.A.). This structure has novel features which are of considerable biological interest.  
A structure for nucleic acid has already been proposed by Pauling and Corey<sup>1</sup>. They kindly made their manuscript available to us in advance of publication. Their model consists of three intertwined chains, with the phosphates near the fibre axis and the bases on the outside. In our opinion, this structure is unsatisfactory for two reasons: (1) We believe that the material which gives the X-ray diagrams is the salt, not the free acid. Without the acidic hydrogen atoms it is not clear what forces would hold the structure together, especially as the negatively charged phosphates near the axis will repel each other. (2) Some of the van der Waals distances appear to be too small.  
Another three-chain structure has also been suggested by Fraser (in the press). In his model the phosphates are on the outside and the bases on the inside, linked together by hydrogen bonds. This structure as described is rather ill-defined, and for this reason we shall not comment on it.  
We wish to put forward a radically different structure for the salt of deoxyribose nucleic acid. This structure has two helical chains each coiled round the same axis (see diagram). We have made the usual chemical assumptions, namely, that each chain consists of phosphate di-ester groups joining  $\beta$ -D-deoxy-ribose residues with 2',5' linkages. The two chains (but not their bases) are related by a dyad perpendicular to the fibre axis. Both chains follow right-handed helices, but owing to the dyad the sequence of the atoms in the two chains run in opposite directions. Each chain loosely resembles Farber's model No. 1; that is, the bases are on the inside of the helix and the phosphates on the outside. The configuration of the sugar and the atoms near it is close to Farber's "standard configuration", the sugar being roughly perpendicular to the attached base. There



is a residue on each chain every 3.4 Å, in the  $d$ -direction. We have assumed an angle of  $30^\circ$  between adjacent residues in the same chain, so that the structure repeats after 10 residues on each chain, that is, after 34 Å. The distances of a phosphorus atom from the fibre axis is 10 Å. As the phosphates are on the outside, adjacent bases have some 3 Å between them. The structure is an open one, and its water content is rather high. At least water contents we would expect the bases to tilt so that the structure could become more compact.  
The novel feature of the structure is the manner in which the two chains are held together by the purines and pyrimidines bases. The planes of the bases are perpendicular to the fibre axis. They are joined together in pairs, a single base from one chain being hydrogen-bonded to a single base from the other chain, so that the two helix sides with identical  $z$ -co-ordinates. One of the pair must be a purine and the other a pyrimidine for bonding to occur. The hydrogen bonds are made as follows: purine position 1 to pyrimidine position 1; purine position 6 to pyrimidine position 6.  
If it is assumed that the bases only occur in the structure in the most plausible tautomeric forms (that is, with the lone pair rather than the end configuration) it is found that only specific pairs of bases can bond together. These pairs are: adenine (purine) with thymine (pyrimidine), and guanine (purine) with cytosine (pyrimidine).  
In other words, if an adenine forms one member of a pair, on either chain, then on these assumptions the other member must be thymine; similarly for guanine and cytosine. The sequence of bases on a single chain does not appear to be restricted in any way. However, if only specific pairs of bases can be formed, it follows that if the sequence of bases on one chain is given, then the sequence on the other chain is automatically determined.  
It has been found experimentally\* that the ratio of the amounts of adenine to thymine, and the ratio of guanine to cytosine, are always very close to unity for deoxyribose nucleic acid.  
It is probably impossible to build this structure with a ribose sugar in place of the deoxyribose, as the extra oxygen atom would make too close a van der Waals contact.  
The previously published X-ray data<sup>2,3,4</sup> on deoxyribose nucleic acid are insufficient for a rigorous test of our structure. So far as we can tell, it is roughly compatible with the experimental data, but it must be regarded as a suggested model. We have not asked against more exact results. Some of these are given in our following communication. We were not aware of the details of the results presented there when we devised our structure, which rests mainly though not entirely on published experimental data and stereochemical arguments.  
It has not escaped our notice that the specific pairing we have postulated immediately suggests a possible copying mechanism for the genetic material.  
Full details of the structure, including the conditions assumed in building it, together with a set of co-ordinates for the atoms, will be published elsewhere.  
We are much indebted to Dr. Jerry Donohue for constant advice and criticism, especially on inter-atomic distances. We have also been stimulated by a knowledge of the general nature of the unpublished experimental results and ideas of Dr. M. H. F. Wilkins, Dr. R. E. Franklin and their co-workers at

Maurice Hugh Frederick Wilkins (1916–2004)  
Rosalind Elsie Franklin (1920 – 1958)



1958 - Francis Crick introduce termenul de informație genetică în contextual dogmei centrale a biologiei moleculare.

1961 - Experimentul lui Crick, Brenner et al. – demonstrează că 3 nucleotide succesive codifică un aminoacid – noțiunea de codon

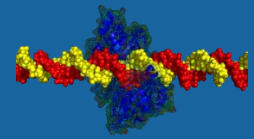
Marshall Warren Nirenberg (1927 –2010)  
J. Heinrich Matthaei (1929)  
Severo Ochoa de Albornoz (1905 - 1993)  
Har Gobind Khorana (1922 – 2011)

Contribuie la descifrarea codului genetic

Originile 1953 Perioada clasică 1963

Anii 70 Perioada de expansiune Era genomică și post-genomică

\*Tabery, James, Monika Piotrowska, and Lindley Darden, "Molecular Biology", *The Stanford Encyclopedia of Philosophy* (Summer 2020 Edition), Edward N. Zalta (ed.), URL = <<https://plato.stanford.edu/archives/sum2020/entries/molecular-biology/>>



# Scurtă istorie a dezvoltării biologiei moleculare\*



François Jacob  
(1920 – 2013)



Jacques Lucien Monod  
(1910 – 1976)

Primele investigații referitoare  
la controlul expresiei genice în  
*E.coli*



## *Drosophila*

Seymour Benzer  
(1921 – 2007)

## *Caenorhabditis elegans*

Sydney Brenner  
(1927 – 2019)



Aplică tehnici de biologie moleculară pentru a  
demonstra legătura dintre gene și  
comportament

Conceptele biologiei moleculare își găsesc aplicații în majoritatea domeniilor științelor vieții

Originile

1953

Perioada clasică

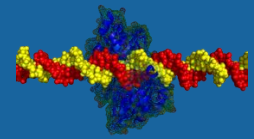
1963

Perioada de expansiune

Anii 70

Era genomică și  
post-genomică

\*Tabery, James, Monika Piotrowska, and Lindley Darden, "Molecular Biology", *The Stanford Encyclopedia of Philosophy* (Summer 2020 Edition), Edward N. Zalta (ed.), URL = <<https://plato.stanford.edu/archives/sum2020/entries/molecular-biology/>>



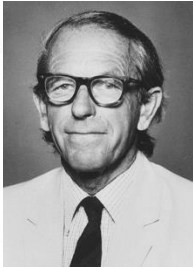
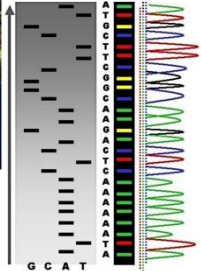
# Scurtă istorie a dezvoltării biologiei moleculare\*

**1975 - Metoda Southern de electrotransfer și evidențiere a acizilor nucleici**



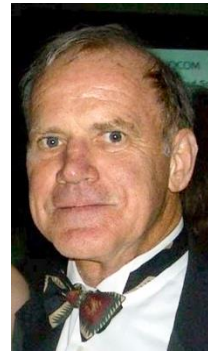
Edwin Mellor Southern (1938)

**1977 - Metoda Sanger de secvențiere a ADN-ului**



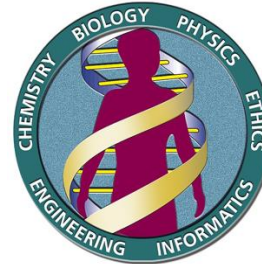
Frederick Sanger (1918 - 2013)

**1983 – Amplificarea în vitro a ADN-ului**



Kary Banks Mullis (1944 – 2019)

**1990 – Proiectul genomului uman**



**1994 - 1998 – Metode de secvențiere NGS**

Cunoașterea secvenței genomice nu este suficientă pentru a descifra funcțiile complexe, fiind necesar studiul celorlalte entități celulare –

**sub-domenii post-genomice:**

**Transcriptomică;**

**Proteomică;**

**Metabolomică.**

Originile

**1953**

Perioada clasică

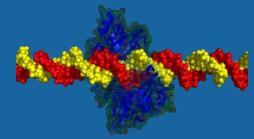
**1963**

Perioada de expansiune

**Anii 70**

Era genomică și post-genomică

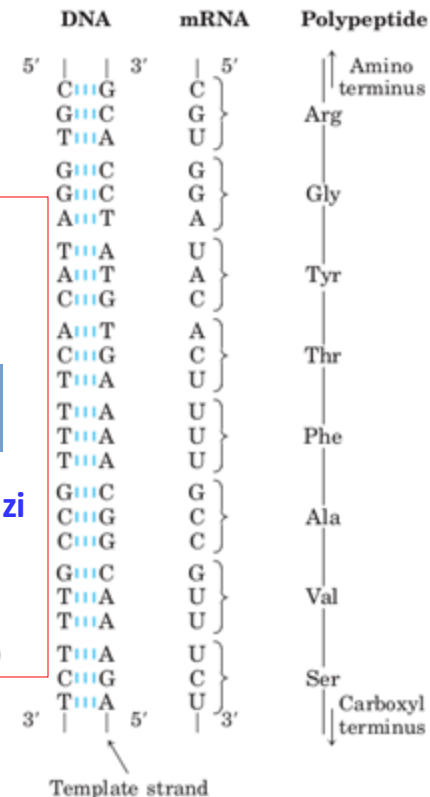
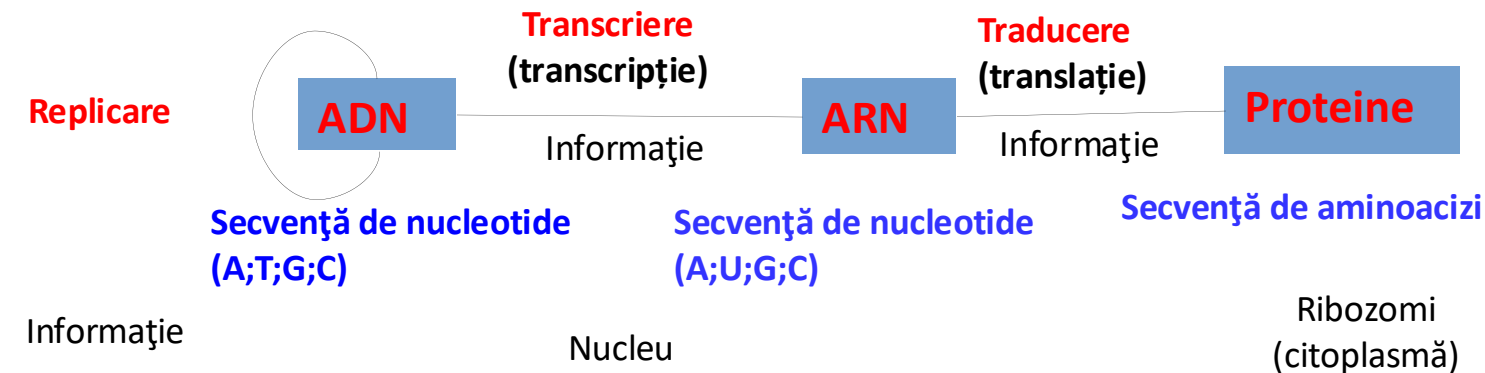
\*Tabery, James, Monika Piotrowska, and Lindley Darden, "Molecular Biology", *The Stanford Encyclopedia of Philosophy* (Summer 2020 Edition), Edward N. Zalta (ed.), URL = <<https://plato.stanford.edu/archives/sum2020/entries/molecular-biology/>>



# Concepte fundamentale în biologia moleculară

## A. Dogma centrală a biologiei moleculare

Informația genetică este transferată unidirecțional – de la acizii nucleici spre proteine



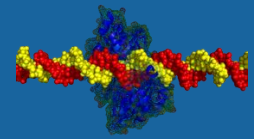
“Dogma” nu mai este o dogmă, ci o realitate demonstrată experimental

In his autobiography, *What Mad Pursuit*, Crick wrote about his choice of the word *dogma* and some of the problems it caused him:

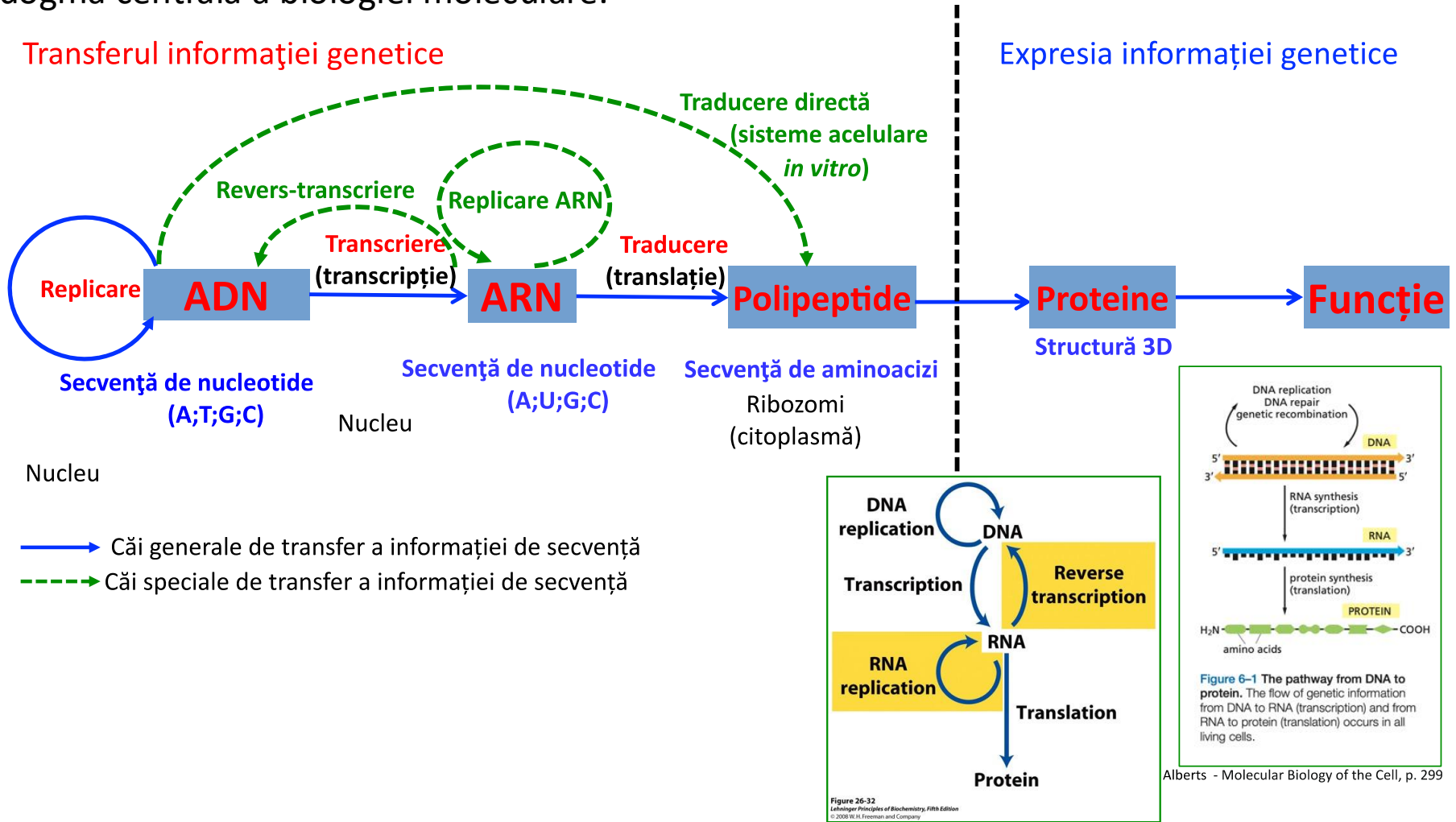
"I called this idea the central dogma, for two reasons, I suspect. I had already used the obvious word *hypothesis* in the *sequence hypothesis*, and in addition I wanted to suggest that this new assumption was more central and more powerful. ... As it turned out, the use of the word *dogma* caused almost more trouble than it was worth. Many years later *Jacques Monod* pointed out to me that I did not appear to understand the correct use of the word *dogma*, which is a belief *that cannot be doubted*. I did apprehend this in a vague sort of way but since I thought that *all* religious beliefs were without foundation, I used the word the way I myself thought about it, not as most of the world does, and simply applied it to a grand hypothesis that, however plausible, had little direct experimental support."

Similarly, *Horace Freeland Judson* records in *The Eighth Day of Creation*:<sup>[19]</sup>

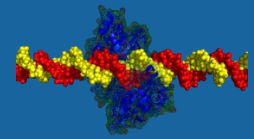
"My mind was, that a dogma was an idea for which there was *no reasonable evidence*. You see?!" And Crick gave a roar of delight. "I just didn't *know* what *dogma* meant. And I could just as well have called it the 'Central Hypothesis,' or — you know. Which is what I meant to say. Dogma was just a catch phrase."



Legătura informației genetice – funcție biologică este un proces complex ce conține și abateri de la dogma centrală a biologiei moleculare.







# Concepte fundamentale în biologia moleculară

## B. Genă

**Gena** - este o secvență de nucleotide (ADN sau ARN) ce codifică sinteza unui produs sub forma unei molecule de ARN sau a unei proteine.

Structura a unei gene:

**A. O regiune codificatoare** (coding sequence, CDS) – porțiunea din genă ce codifică secvența unei proteine. Secvența de nucleotide dintre codonul **START** (cel mai frecvent **ATG**) și codonul **STOP** poartă numele de **cadru deschis de lectură** (*ORF, open reading frame*).

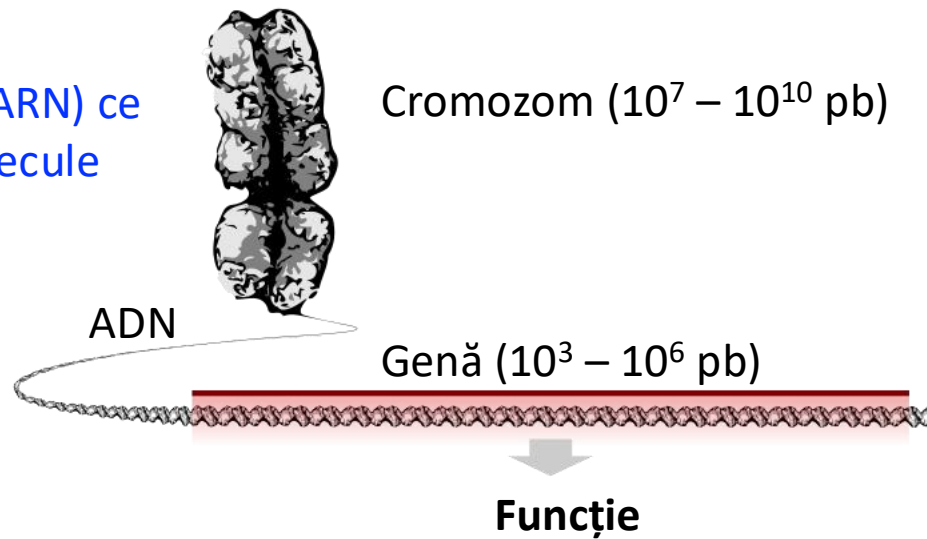
În cazul procariotelor (PK), regiunea codificatoare este alcătuită din mai multe ORF-uri (*operon policronic*). În cazul eucariotelor (EK) o genă conține un singur ORF, dar acesta este alcătuit din zone codificatoare (exoni) și zone necodificatoare (introni).

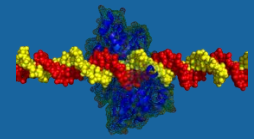
**B. Secvențe reglatoare** - amplasate de o parte și de alta a regiunii codificatoare. Aceste secvențe reglatoare sunt reprezentate din:

**B.1 – secvență promotor** – recunoscută de factorii de transcriere, care se leagă la acest nivel și recrutează ARN – polimeraza pentru a iniția transcrierea. Parte a secvenței promotor este reprezentată de o secvență consens cu o amplasare foarte precisă față de situs-ul de inițiere a transcrierii: **TATA-box** de la EK la -25 nucleotide și **Pribnow box** de la PK la -10 și -35 de nucleotide.

**B.2 – regiuni enhancer/silencer** – zone reglatoare amplasate la distanță mare de regiunea codificatoare;

**B.3. – zone 5'UTR și 3'UTR** (untranslated regions) – de o parte și de alta regiunii codificatoare ce conțin un situs de legare a ribozomului (RBS), zone terminatoare ale transducerii precum și codonii **START** și **STOP**;

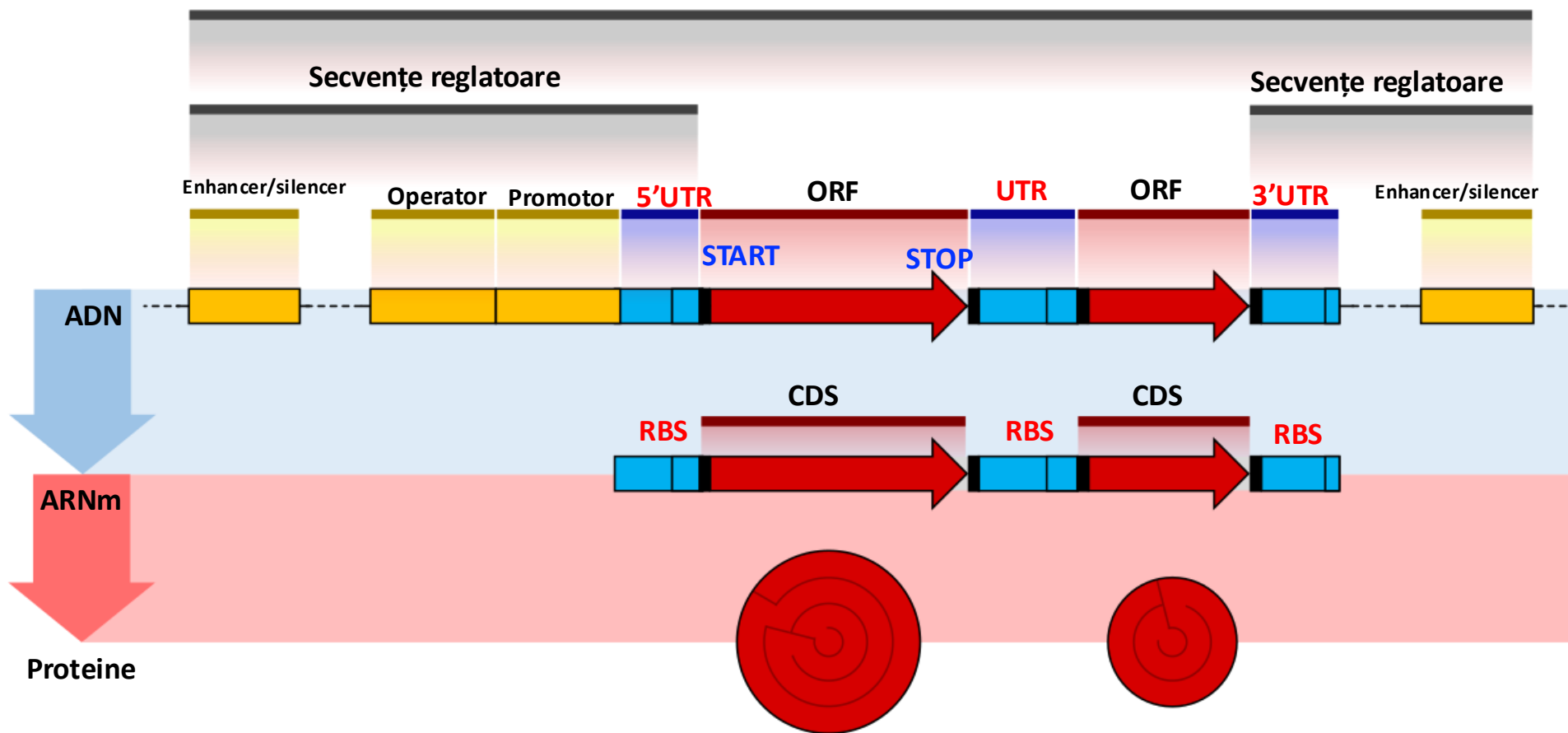


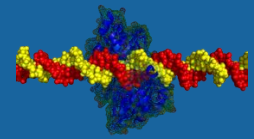


# Concepte fundamentale în biologia moleculară

## Gena la PK

### Operon policistronic





# Concepte fundamentale în biologia moleculară

## Gena la EK

