

**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 Mihășan, Prof. Dr. Habil.						
2.3 Titularul activităților de laborator	Răzvan Ștefan Boiangiu, Asist. univ. dr.						
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 săptămâni
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					150
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 recomanda 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 acces la instrumentele și aparatura existentă (termociclor, sisteme de electroforeză orizontală și verticală, sistem Western-Blot, sistem



	de fotografiere geluri, sistem de electroporare, liofilizator, HPLC, Speed-Vac). În cazul seminariilor 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; dezbateri.	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 modificare a 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 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 moleculara – metode experimentale Ed. Univ. „A.I.Cuza”, Iași, 2012.
4. Mihășan, 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 Mihășan, Cornelia Babii, Roshanak Aslebagh, Devika Channaveerappa, Emmalyn Dupree, Costel C. Darie, Exploration of nicotine metabolism in *Paenarthrobacter nicotinovorans* pAO1 by microbial proteomics – in Advancements of Mass Spectrometry in Biomedical Research Eds. Dr. Alisa G. Woods, Dr. Costel C. Darie, Springer, 2019;1140:515-529. doi: 10.1007/978-3-030-15950-4_30.
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, 2019;1140:265-287. doi: 10.1007/978-3-030-15950-4_15



8.2	Seminar / Laborator	Metode de predare	Observații (ore și referințe bibliografice)
1.	Norme de protecție a muncii în laboratorul de Biologie Moleculară. Măsuri 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 nicotinovorans</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 moleculara – metode experimentale Ed. Univ. „Al.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 capacitatea selectării metodelor, utilizării adecvate a echipamentelor, interpretării și analizei rezultatelor investigațiilor specifice compartimentului Diagnostic molecular din cadrul Laboratorului de analize medicale. Asociațiile profesionale și angajatorii din domeniul sănătății consideră aceste capacități indispensabile activităților realizate de către un absolvent al studiilor masterale în laboratoarele de analize medicale.

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;	Examen prin test grilă folosind platforma Moodle	90%



	- exprimarea clară și logică ideilor; - descrierea rațională a principiilor principalelor tehnici de biologie moleculară;		
10.5 Seminar / Laborator	- 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;	Portofoliu lucrari practice	10%
10.6 Standard minim de performanță: 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 tip-uri diferite utilizate pentru purificarea proteinelor.			

Data completării

Titular de curs

Marius MIHĂȘAN, Prof. Dr. Habil.

Titular de seminar / laborator

Răzvan Ștefan Boianu, Asist. univ. dr.

Data avizării în departament

Director de departament

Șef. Lucr. dr. Elena TODIRAȘCU-CIORNEA