



UNIUNEA EUROPEANĂ



GUVERNUL ROMÂNIEI
MINISTERUL MUNCII, FAMILIEI,
PROTECȚIEI SOCIALE ȘI
PERSOANELOR VÂRSTNICE
AMPOSDRU



Fondul Social European
POSDRU 2007-2013



Instrumente Structurale
2007-2013



MINISTERUL
EDUCAȚIEI
NAȚIONALE
OIPOSDRU



UNIVERSITATEA
POLITEHNICĂ DIN
BUCUREȘTI

Proiect cofinanțat din Fondul Social European prin Programul Operațional Sectorial Dezvoltarea Resurselor Umane 2007-2013
Investește în oameni!



UNIVERSITATEA POLITEHNICĂ DIN BUCUREȘTI

FACULTATEA DE ELECTRONICĂ, TELECOMUNICAȚII ȘI TEHNOLOGIA INFORMAȚIEI



Liliana BURLIBAȘA
Dănuț CIMPONERIU
Irina RADU
Lucian GAVRILĂ

INTRODUCERE ÎN GENOMICĂ

MASTER ITEMS

Tehnici de Analiză, Modelare și Simulare
pentru Imagistică, Bioinformatică și Sisteme Complexe

CUPRINS

Prefață	1
Capitolul I – Organizarea celulară	3
Capitolul II – Dinamica celulară a genomului	17
Generalități	17
Diviziunea celulară mitotică	18
Diviziunea celulară meiotică	22
Semnificația meiozei	27
Aplicații practice	28
Metoda Feulgen de evidențiere a cromozomilor în mitoză; obținerea de preparate permanente; studiul cromozomilor mitotici din țesutul hematopoetic de la animale; evidențierea cromozomilor în meioză	
Bibliografie selectivă	33
Capitolul III – Noțiuni introductive asupra eredității și variabilității lumii vii	35
Legile mendeliene ale eredității; interpretarea matematică a legilor lui Mendel	35
Bibliografie selectivă	48
Capitolul IV – Linkage-ul genetic și cartarea cromozomală	49
Noțiuni de linkage al genelor Crossing-over și cartare genetică Bibliografie selectivă	
Capitolul V – Acizii nucleici ca material genetic al lumii vii	53
Rolul ADN în ereditate	53
Rolul ARN în ereditate	54
Structura fizică și chimică a ADN	55
Denaturarea și renaturarea ADN	60
Replicarea acizilor nucleici	62
Aplicații practice: Metode de izolare a acizilor nucleici	69
Electroforeza acizilor nucleici	74
Bibliografie selectivă	89

Capitolul VI – Organizarea genomului procariot si eucariot	91
Dimensiunea si arhitectura cromozomului bacterian	92
Functionarea genomului procariot – tipuri de operoni	93
Ereditatea extracromozomala bacteriana	94
Organizarea genomului eucariot – proteine cromozomale; tipuri de secvente. Organizarea moleculara a cromozomilor	95
Aplicatii practice: Reacția de Polimerizare în Lanț (PCR)	100
Bibliografie selectivă	112
 Capitolul VII – Functionarea genomului	 113
Codul genetic	113
Transcripția	117
Translația informației genetice	127
Proces reparator al macromoleculii ADN	128
Aplicatii practice: Analiza acizilor nucleici prin metode moleculare indirecte	131
Bibliografie selectivă	149
 Capitolul VIII – Accesibilitatea genomului	 151
Cromatina – Structură și funcții; organizarea structurala a cromatinei; organizarea functionala a cromatinei	151
Modificarile cromatinei si expresia genomului	164
Factori de transcriere	172
Proteinele HMG	178
Aplicații practice: Secvențierea ADN	179
Bibliografie selectivă	187
 Capitolul IX – Mecanisme epigenetice implicate in reglajul expresiei genice	 209
Introducere	209
Metilarea ADN	212
Modificari chimice ale histonelor și mecanisme de reglare a transcrierii; Ipoteza codului histonic	221
ARN de interferență și silențierea transcripțională	228
Aplicatii practice: Tehnica de imunoprecipitare a cromatinei	230
Bibliografie selectivă	232
 Capitolul X – Genomica si Epigenomica computationala	 237
Noțiuni introductive – baze de date	237
Adnotarea bazelor de date	240
Aplicații ale programelor de bioinformatică	244
Baze de date din domeniul epigeneticii	248
Webgrafie	249

PREFAȚĂ

Genetica și în special genetica moleculară, ingineria genetică, biotehnologiile, sunt domenii cu o dezvoltare extrem de rapidă, uluitoare chiar și pentru cei care își dedică întreaga activitate acestor ramuri moderne ale biologiei.

Progresele realizate în cunoașterea structurii moleculare a genei și cromozomilor, în sinteza artificială și transferul de gene, în tehnologia ADN recombinat, în obținerea organismelor (plante și animale) transgenice, terapia genică, în biotehnologiile și bioindustria create pe baza lor au făcut necesară revizuirea în profunzime a concepțiilor clasice din genetică.

În ultimii au fost realizate progrese remarcabile în domeniul Geneticii și al Biologiei Moleculare, grație a evoluției abordărilor experimentale, unele reconsiderând experimentele clasice dintr-o perspectivă moleculară, dar și datorită simulărilor computerizate a diferitelor procese fundamentale care stau la baza eredității și variabilității lumii vii.

Dezvoltarea tehnicii PCR (polymerase chain reaction) a fost pilonul care a stat la baza altor mari descoperiri și a deschis era Genomicii. La început au fost proiecte simple precum descifrarea unor secvențe de nucleotide la organisme primitive (virusuri, bacterii) însă, în anul 2003, a fost finalizat un proiect științific foarte ambițios, Proiectul Genom Uman prin care a fost identificată secvența întregului genom uman și au fost identificate cele aproximativ 25.000 de gene atât din punct de vedere fizic, cât și funcțional. Actualmente, secvența este depusă în baza de date Genbank ce aparține NCBI (US National Centre for Biotechnology Information).

Odată cu descifrarea întregii secvențe a genomului uman, cercetătorii au înțeles ca acesta nu reprezintă decât scheletul, fundamentul eredității noastre. Expresia, plasticitatea, adaptabilitatea, stabilitatea și evoluția eredității sunt rezultatul mecanismelor operaționale care controlează și reglează expresia genelor. Mecanismele prin care "genotipul" se exprimă și devine "fenotip" sunt încă insuficient înțelese. De asemenea, interferența factorilor de mediu cu aceste procese ce controlează și reglează expresia genelor este puțin cunoscută. Ultimii 15 ani au fost dedicați cu precădere studiului modificărilor care au loc în materialul genetic al organismelor eucariote, modificări aparent minore, dar cu posibile repercursiuni dramatice asupra expresiei genice. Pornind de la aceste modificări în structura materialului genetic, s-a dezvoltat un nou domeniu, Epigenetica, ce a definit un alt nivel informațional, adițional celui genetic, denumit nivelul epigenetic al expresiei genice.

Actualmente termenul "epigenetic" este substituit de termenul "epigenomic", grație marilor performanțe realizate atât în secvențierea genomului, cât și în descifrarea secvențelor de aminoacizi ale fenotipurilor corespunzătoare. Astfel, cele două domenii interrelate Genomica și Proteomica pot fi abordate astăzi prin tehnologiile high-throughput. Domeniul de legătură capabil să explice variația expresiei genice în condițiile unui background genetic stabilizat evolutiv de milenii, este considerată a fi "Epigenomica".

Pe baza unor astfel de considerente s-au deschis noi orizonturi și posibilități de investigație în domeniile citodiferențierii, fertilizării, oncogenezei și îmbătrânirii.

Ținând seama de explozia de date noi din domeniu și de rapiditatea cu care aceste noi descoperiri se succed, învățământul superior este solicitat să-și aducă o contribuție sporită la

pregătirea, la nivel contemporan, modern, a specialiștilor, a celor care în viitor trebuie să dezvolte mai departe această știință modernă. Evoluția metodelor de bioinformatică și de analiză computerizată a datelor din genomică și epigenomică au făcut posibilă realizarea unor programe de pregătire interdisciplinare.

Acest manual cuprinde o prezentare a datelor din genetica clasică referitoare la organizarea și funcționarea genomului, dar sunt prezentate și descoperiri noi din domeniul genomicii și epigenomicii precum și bazele de date existente pentru analiza rezultatelor experimentale din domeniile sus-menționate.

Manualul cuprinde și o serie de tehnici noi, moderne de analiză astfel încât, cartea se adresează în special studenților, dar și tinerilor cercetători, cu speranța că problematica prezentată le va trezi curiozitatea și îi va încuraja să abordeze acest domeniu extrem de dinamic și modern.

Autorii vor fi deosebit de recunoscători pentru orice sugestii și observații care ar putea contribui la îmbunătățirea edițiilor viitoare.

Publicarea acestui manual a fost susținută financiar de proiect POSDRU /86/1.2/S/61756

Martie 2013

LILIANA BURLIBAȘA