

ARGUMENT

Pregătirea elevilor capabili de performanță este un deziderat al educației diferențiate. Inspectoratul Județean Timiș a selectat **Colegiul Național Bănățean** din Timișoara printre unitățile de învățământ capabile să desfășoare pregătirea loturilor de elevi de mare performanță. Constituirea **Centrelor de Excelență** urmărește valorificarea maximă a potențialului de dezvoltare de care dispun elevii cu performanțe deosebite în domeniul biologiei.

Prin proiectul *Centrul Județean de Excelență pentru elevii de clasa a XII-a* ne-am propus realizarea unor activități ce promovează spiritul olimpic și sprijină tinerii capabili de performanță să valorizeze experiența dobândită la clasă în noi contexte de învățare și evaluare prin participarea la concursuri pe plan local, național și internațional. Comunicarea s-a realizat on-line și „face to face”.

La **biologie**, în fiecare an școlar se desfășoară activitățile **Centrului de excelență pentru clasa a XII-a. Tematica** propusă are ca scop aprofundarea cunoștințelor teoretice, dar și completarea acestora cu activități practice organizate și desfășurate în laboratorul de biologie al școlii, respectiv în laboratoare universitare de specialitate ca Laboratorul de biologie moleculară de la Universitatea de Științe Agricole a Banatului din Timișoara, Platforma de cercetări științifice a Universității de Vest din Timișoara sau Laboratoarele de genetică de la Universitatea de medicină și Farmacie „V. Babeș” din Timișoara. Pentru această oportunitate adresăm mulțumirile noastre doamnei **Conf. Dr Sorina POPESCU** de la **USABMV TM**, domnului **Prof. Univ. Dr. Vasile OSTAFE** de la **UVT TM** și doamnei **Conf. Dr. Dorina Stoicanescu** de la **UMF TM** pentru tot sprijinul acordat atât în organizarea vizitelor de lucru, a lucrărilor practice, cât și pentru contribuția adusă la pregătirea lotului olimpic în vederea participării la etapele naționale ale concursurilor școlare de profil.

Dintre elevii participanți, în fiecare an școlar nominalizăm elevii care au obținut rezultate foarte bune la Olimpiada Națională de Biologie – faza județeană (**Onițiu Daria Colegiul Național Bănățean Timișoara, Mischie Monica, Liceul Pedagogic „C. Sylva” Timișoara**), națională (**Posa Ioan Marius Colegiul Național „C. D. Loga” Timișoara**, și internațională (**Constantin Theodora Alexandra Colegiul Național " Emil Racoviță" Iași**). De asemenea este demn de reținut faptul că elevele care au elaborat materialele publicate în acest studiu au performanțe dovedite în domeniul biologiei, la nivel național și internațional: eleva **Costantin Diana Ioana**, a obținut Medalia de argint la EUSO în anul 2013, iar **Constantin Theodora Alexandra** s-a calificat în Lotul largit 2013 și 2014, respectiv lotul restrâns 2014 obținând Medalia de bronz la Olimpiada Internațională de Biologie.

Activitățile cu elevii, întâlnirile cu specialiștii din domeniu, schimburile de experiență, activitățile practice, au fost finalizate cu lucrări științifice, materiale didactice, respectiv, editarea și tipărirea acestui material.

Autorii acestui studiu își propun să prezinte *Colaje didactice cu aspectele teoretice* discutate în cadrul temelor propuse în cadrul Centrului Județean de Excelență. La sugestia elevilor din CEX 12, am introdus 2 teme din programa de clasa a 11-a, teme mai puțin aprofundate în mod curent la clasă, dar care se regasesc în programele pentru olimpiadă și bacalaureatul internațional, *materiale elaborate de către elevii capabili de performanță* – eseuri, lucrări științifice, rezolvarea și discutarea subiectelor propuse la Proba Practică a olimpiadei de biologie-etapa națională, pentru clasa a 9-a, a 11-a și a 12-a (aceste subiecte au fost elaborate de Ministerul Educației Naționale, iar sugestiile de rezolvare de către elevi), dar mai ales câteva câteva din *temele practice* propuse și realizate în cadrul Centrului Județean de Excelență.

Realizarea acestui material a fost posibilă cu sprijinul Consiliului Județean Timiș, prin Agenda Culturală a Consiliului Județean Timiș/2014 în cadrul proiectului Centrul Județean de Excelență la Biologie pentru elevii claselor a XII-a,

CUPRINS

Planificarea activității.....	4
A. Lucrări practice	5
METODE DE EXTRAGERE A ADN	5
1. Extragerea ADN-ului vegetal	5
2. Extragerea de ADN animal	5
METODE DE ANALIZĂ BIOCHIMICĂ A ADN	6
1. Electroforeza	6
2. Spectofotometria	7
MODELAJ – STRUCTURA SECUNDARĂ A MOLECULEI DE ADN	9
STUDIUL CARIOTIPULUI UMAN - PORTOFOLIU	14
1. Studiul cariotipului uman normal	18
2. Studiul cariotipului uman patologic	24
ANALIZA TRANSMITERII A UNOR CARACTERE EREDITARE UMANE.....	28
PROBLEME DE GENETICĂ REZOLVATE	28
B. Materiale elaborate de elevi.....	33
EXPERIMENTE DE CERCETARE.....	33
Identificarea ADN-ului prin metoda PCR	33
SUBIECTE REZOLVATE	37
Proba practică - CLASA A 12-A ONB 2014.....	37
Proba practică - CLASA A 11-A - ONB 2013.....	47
Proba practică - CLASA A 9-A - ONB 2013.....	49
ESEURI	53
A. Ce înseamnă lotul largit la Olimpiada Națională de Biologie.....	53
B. Participarea la Olimpiada Internațională de Biologie	58
C. Participarea la Olimpiada de Științe a Uniunii Europene (EUSO), ce înseamnă pregătirea și selecția pentru EUSO.....	62
C. Un plus de teorie	65
I. Genetică 1. GENETICĂ MOLECULARĂ	65
Acizii nucleici și biosinteza proteică.....	65
1.1. Biosinteza proteică.....	65
1.2. REPLICAREA ADN BICATENAR - autocopierea -	66
1.3. SINTEZA PROTEICĂ – funcția heterocatalitică	69
1.4. Genomica (genomica structurală: obiect de studiu, metode și tehnici);	72
1.5. Reglajul genetic la procariote și eucariote;	73
2. GENETICĂ UMANĂ	77
2.1. Genomul uman - complementul cromozomial.....	77
2.1.1. Cariotipul uman normal	77
2.1.2. Cariotipul uman patologic.....	79
2.2. Determinismul genetic al principalelor caractere fenotipice umane;.....	82
2.3. Diversitatea genetică - noțiuni fundamentale de evoluționism.....	82
2.4. Mutațiile genetice.....	86
II. SINTEZE NEURO- ENDOCRIN	98
1. Sistemul nervos.....	98

2. GLANDELE ENDOCRINE	141
În loc de ÎNCHEIERE.....	159
Bibliografie consultată	160

A. Lucrări practice

METODE DE EXTRAGERE A ADN

1. Extragerea ADN-ului vegetal

Tehnica (Huțanu/2007):

1. Se pun în mixer fragmente secționare de **bulb de ceapă și banană** (câte **5 g** fiecare) cu o **linguriță de sare** și **20 ml** apă caldă (60-70°C)
2. Se mixează **5-10 sec** la **viteză mică**.
3. **Se strecoară** într-un **vas** (mojar/pahar) lichidul obținut (până la jumătatea vasului).
4. Se adaugă peste lichidul colectat **2 lingurițe detergent de vase/detergent lichid** și se **amestecă ușor** cu o **scobitoare/linguriță**, astfel încât să nu se formeze bule.
5. Se adaugă alcool, având grijă să rămână separate cele 2 lichide. Așteptați **5 min**.
6. Folosindu-vă de scobitori, extrageți filamentele care s-au ridicat la suprafața lichidului. Observați-le cu o **lupă/microscop**. Sunt macromolecule de ADN.

2. Extragerea de ADN animal

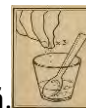
1. Freacă mucoasa bucală de dinți. Nu înghiți.



2. Clătește cu **4 ml apă** și sculpă într-un vas mic (pahărel).



3. Adaugă de **3x** cât iei cu vârful degetelor, **sare de masă**. Amestecă cu o **linguriță**.



4. Adaugă **1 ml detergent de vase** și amestecă ușor **3 min**, **evitând să faci spumă!**



5. Adaugă ușor, în vasul înclinat (45°) **5 ml alcool** medicinal. (Alcoolul trebuie să rămână la suprafața

soluției!). Așteaptă **5 min**.



6. Observă filamentele de ADN care s-au ridicat la suprafața lichidului. (poți folosi o lupă/microscop).



METODE DE ANALIZĂ BIOCHIMICĂ A ADN

1. Electroforeza

Electroforeza în gel este o metodă de analiză a acizilor nucleici și a proteinelor bazată pe dimensiune și pe sarcina electrică a acestora. Este o metodă foarte des folosită în criminalistică, biologie moleculară, genetică, microbiologie și biochimie.

Pentru fragmente mari ADN cel mai des se utilizează gelul de agaroză, iar pentru fragmente mici de ADN și pentru proteine gelul de poliacrilamidă. Indiferent de materialul din care este confecționat gelul, principiul acestei metode este același. Gelul poate fi asemănat cu o sită, o rețea de fibre împletite, cu ochiuri prin care pot trece macromoleculele. Cu cât este mai mare concentrația gelului, cu atât ochiurile au dimensiuni mai mici.

Macromoleculele migrează către polul cu semn opus (pozitiv/negativ), iar viteza de migrare este invers proporțională cu dimensiunea acestora (cu cât sunt mai mari, cu atât migrează mai lent). Astfel, la final, moleculele cu dimensiuni mai mici se află mai aproape de electrodul de semn opus, iar cele mai mari se află mai aproape de locul în care a fost încărcată proba.

Diferența majoră dintre proteine și acizii nucleici este faptul că proteinele pot avea sarcină pozitivă, în timp ce grupările fosfat din ADN și ARN asigură o sarcină negativă. Pentru a „uniformiza” proba, proteinele sunt tratate cu detergenți (de obicei dodecil sulfat de sodiu – SDS) pentru a fi denaturate până la structura primară (lanț de aminoacizi) și pentru a căpăta o sarcină negativă, proporțională cu dimensiunea proteinei.

Etapele unei electroforeze de ADN liniar în gel de agaroză.

Prepararea gelului

Protocolul de preparare a gelului diferă în funcție de cantitatea dorită și de concentrația de agaroză necesară (0,3-3%). Agaroză (pudră) se dizolvă în soluție TAE sau TBE și se încălzește până aproape de fierbere. Se lasă să se răcească până la aproximativ 50°C și se adaugă bromură de etidiu (substanță fluorescentă care va permite vizualizarea benzilor în lumină UV). Atenție! Bromura de etidiu trebuie adăugată purtând mănuși, întrucât este toxică. Soluția răcită se toarnă în camera de migrare a tancului de electroforeză, iar în aceasta se fixează un pieptene. Prin răcire gelul va deveni semi-solid, iar în locul dinților pieptenului vor rămâne goluri (godeuri) în care vom încărca probele. Gelul se acoperă apoi cu soluție tampon.

Prepararea materialului

Metodele de preparare variază în funcție de cantitatea de ADN (dacă este prea puțin material, este necesară amplificarea lui prin PCR), lungime (fragmentele foarte lungi trebuie să fie tăiate cu ajutorul enzimelor de restricție), proveniență (bacterian sau eucariot), tip (monocatenar sau bicatenar) etc.

De asemenea, este important ca proba să nu fie contaminată cu proteine, ARN sau chiar cu ADN de origine diferită față de materialul cercetat (există totuși o metodă de determinare a purității unei probe prin electroforeză).

Pe lângă acid nucleic, materialul încărcat în gel trebuie să conțină un tampon de încărcare ce are în componență un colorant care permite vizualizarea frontului de migrare și care oferă siguranța încărcării corecte a probei în gel (restul substanțelor sunt incolor în lumină vizibilă) și zaharoză sau glicerină care are rolul de a mări densitatea astfel încât proba să pătrundă în godeurile gelului. Acest lucru este necesar pentru ca proba încărcată să poată dezlocui soluția tampon din golul format de dinții pieptenului.

Încărcarea probelor