

FIȘA DISCIPLINEI

DENUMIREA DISCIPLINEI	METODE ACTUALE IN FIZIOLOGIA CELULARA SI MOLECULARA	cod:
-----------------------	--	------

ANUL DE STUDIU	MASTER	SEMESTRUL	I	STATUTUL DISCIPLINEI (AP -aprofundare/ CC -obtinere competente/ F -facultativă)	AP
----------------	---------------	-----------	---	---	----

NUMĂRUL ORELOR PE SAPTĂMÂNĂ				TOTAL ORE SEMESTRU	TOTAL ORE ACTIVITATE INDIVIDUALĂ*	NUMĂR DE CREDITE	TIPUL DE EVALUARE (P -pe parcurs, C -colocviu, E -examen, M -mixt)	LIMBA DE PREDARE
C	S	L	Pr.					
2	1	-	-	42	28		E	Română

TITULARUL DISCIPLINEI	GRADUL DIDACTIC ȘI ȘTIINȚIFIC, PRENUMELE, NUMELE	DEPARTAMENTUL
	PROF. DR. ALEXANDRU BABES	ANATOMIE, FIZIOLOGIE ANIMALA SI BIOFIZICA

DISCIPLINE ANTERIOR ABSOLVITE	FIZIOLOGIE ANIMALA, ANATOMIE, BIOFIZICA, BIOLOGIE MOLECULARA, TEHNICI DE LUCRU IN BIOLOGIE MOLECULARA, INTRODUCERE IN BIOINFORMATICA
-------------------------------	--

OBIECTIVE	Disciplina de cunoastere avansata cu scopul de a familiariza masteranzii cu cele mai moderne metode experimentale de investigare a proceselor ce tin de fiziologia celulara si moleculara. Se va insista pe revelarea caracterului multi-disciplinar al demersurilor de cercetare experimentală in domeniu. Cursul va fi ilustrat cu ajutorul celor mai recente publicatii stiintifice din domeniu si se va baza pe demonstratii practice ale unor tehnici moderne de fiziologie celulara.
TEMATICĂ GENERALĂ	<p>I. Tehnici electrofiziologice; generalitati</p> <p>I.1 Potential de repaus I.2 Potential de actiune I.3 Metoda inregistrarii extracelulare I.4 Metoda inregistrarii intracelulare</p> <p>II. Tehnica de patch clamp. Tehnica de BLM (black lipid membranes)</p> <p>II.1. Metoda voltage clamp II.2. Tehnica de patch clamp: configuratii de inregistrare II.3. Aplicatia current clamp II.4. Tehnici asociate cu membrane artificiale : BLM, SSM</p> <p>III. Tehnica „skin-nerve”</p> <p>III.1. Traducerea senzoriala III.2. Terminatii nervoase periferice III.3. Eliberarea de neuropeptide III.4. Inregistrarea potentialelor de actiune propagate</p> <p>IV. Microfluorimetria de calciu</p> <p>IV.1 Indicatori fluoresceni pentru calciu IV.2 Imagistica de calciu non-ratiometrica IV.3 Imagistica de calciu ratiometrica IV.4 Imagistica pentru alti ioni de interes</p> <p>V. Tehnicile de Northern blot si hibridizare in situ</p> <p>V.1. Tehnica de Northern blot V.2. Hibridizarea in situ V.3. Exemplificare pe sistemul nervos periferic</p> <p>VI. Tehnici de imunohisto- si imunocitochimie</p> <p>VI.1.Obtinerea de anticorpi prin imunizare VI.2. Anticorpi primari si anticorpi secundari VI.3. Imunomarcarea prin fluorescenta</p> <p>VII. Amplificarea si purificarea ADN-ului plasmidial</p> <p>VII.1. Obtinerea de bacterii competente VII.2. Transformarea bacteriilor cu ADN plasmidial VII.3 Culturi bacteriene small-scale si large- scale VII.4 Purificarea ADN-ului plasmidial</p> <p>VIII.Exprimarea heterologa a proteinelor recombinante in linii celulare (1)</p> <p>VIII.1. Exprimarea canalelor ionice in ovocite de Xenopus</p>

	<p>VIII.2. Metoda de voltage-clamp cu doi electrozi</p> <p>IX. Exprimarea heterologa a proteinelor recombinante in linii celulare (2)</p> <p>IX.1. Clonarea si manipularea ADN-ului complementar</p> <p>IX.2. Sisteme de exprimare tranziente si stabile</p> <p>X. Mutageneza directionata (1)</p> <p>X.1. Vectori, biblioteci de ADNc</p> <p>X.2. Manipulare enzimatica a ADN si ARN</p> <p>XI. Mutageneza directionata (2)</p> <p>XI.1. Mutageneza prin metode PCR</p> <p>XII. Tehnici bazate pe PCR: RT-PCR, PCR cantitativ (1)</p> <p>XII.1. Izolarea chimica a ARN mesager</p> <p>XII.2. Design-ul de primeri pentru RT-PCR</p> <p>XII.3. Tehnica RACE (rapid amplification of cDNA ends</p> <p>XIII. Tehnici bazate pe PCR: RT-PCR, PCR cantitativ (2)</p> <p>XIII.1 Strategii de PCR cantitativ</p> <p>XIII.2 PCR cantitativ „real time”</p> <p>XIV. Obtinerea de animale transgenice</p> <p>XIV.1 Tehnologia celulelor stem embrionare</p> <p>XIV.2 Obtinerea de animale knock-out</p> <p>XIV.3 Knock-out conditional cu specificitate tisulara</p>
<p>TEMATICA LUCRARILOR PRACTICE SI SEMINARIILOR</p>	<p>I. Introducere in tehnica de patch clamp</p> <p>II. Tehnica de patch clamp in configuratia „current clamp”</p> <p>III. Inregistrari in configuratia „excised patch”</p> <p>IV. Introducere in microfluorimetria de calciu</p> <p>V. Amplificarea si purificarea ADN-ului plasmidial</p> <p>VI. Transfectia tranzitorie a celulelor HEK cu proteine recombinante</p> <p>VII. Simulare pe calculator: laboratorul transgenic Drosophila</p>
<p>METODE DE PREDARE</p>	<p>La curs: prelegere, conversatie, problematizare</p> <p>La seminar: simulari pe calculator ale unor procese fiziologice, lucrul direct cu literatura de specialitate, demonstrarea unor tehnici experimentale moderne</p>

<p>BIBLIOGRAFIE OBLIGATORIE (SELECTIV)</p>	<p>1.Short protocols in Neuroscience, Gerfin et al., Wiley, 2006</p> <p>2.Short protocols in Molecular Biology, Ausubuel et al., Wiley, 2002</p> <p>3.Expression and analysis of recombinant Ion channels, Clare and Tresize, Wiley-VCH, 2006</p> <p>4.Neurobiology, Myers, Wiley-VCH, 2008</p> <p>5.Essential Molecular Biology, Brown, Oxford University Press, 2000</p>
---	--

<p>EVALUARE</p>	condiții	Prezența la curs (minim 60%) si laborator (86%)
	criterii	<ol style="list-style-type: none"> 1. capacitatea de a lucra cu conceptele discutate 2. capacitatea de a propune abordari experimentale corecte 3. capacitatea de a interpreta un articol de specialitate in domeniu, integrarea in literatura de specialitate, logica experimentală, concluziile studiului si de a prefigura tipul de investigatii care se impun in viitor
	forme	Evaluare scrisă
	formula notei finale	<p>Evaluarea participării la activitățile de laborator 30%</p> <p>Răspunsurile la examinarea finală 60%</p> <p>Analiza de articole 10 %</p>