

Okruhy otázok z predmetu "Molekulárna biológia a genetika mikroorganizmov"
pre štátne skúšky v študijnom programe Mikrobiológia v magisterskom stupni štúdia

1. Štruktúra a funkcie nukleových kyselín v bunke. Interakcie nukleových kyselín s proteínmi. Replikácia DNA v prokaryotickej bunke. Metódy izolácie DNA z bakteriálnych buniek, PCR. Restriktčné a modifikačné enzýmy. Restriktčná analýza a elektroforéza DNA.
2. Štruktúra a funkcie rôznych typov RNA v bunke (mRNA, tRNA, rRNA). Transkripcia v prokaryotickej bunke. Polygénne mRNA, operóny. Štruktúra a funkcie tRNA, aminoacyl-tRNA syntetázy. Využitie rRNA v štúdiu fylogenetických vzťahov organizmov.
3. Štruktúra a funkcie proteínov v bunke. Translácia v prokaryotickej bunke. Prokaryotické ribozómy, inhibítory proteosyntézy. Rozdiely medzi eubakteriálnou, archebakteriálnou a eukaryotickou proteosyntézou.
4. Genetický kód a jeho vlastnosti. Otvorené čítacie rámce, prekrývajúce sa gény.
5. Mechanizmy regulácie génovej expresie v prokaryotickej bunke. Negatívna regulácia génovej expresie – enzýmová indukcia a represia. Pozitívna regulácia génovej expresie – katabolická represia. Laktózový a arabinózový operón. Atenuácia – tryptofánový operón.
6. Regulácia aktivity enzýmov v prokaryotickej bunke. Inhibícia produktom reakcie, inhibícia spätnou väzbou, kovalentné modifikácie proteínov. Rast a regulácia syntézy makromolekúl, stimulón, regulón.
7. Gén, mutácia, genetická rekombinácia. Typy mutantov, metódy izolácie mutantov. Molekulárna podstata mutácie, typy mutácií.
8. Chemické a fyzikálne mutagény, mechanizmus ich pôsobenia. Mechanizmus regulačného systému SOS. Biologické mutagény, transpozónová mutagenéza. Miestne-špecifická mutagenéza. Mutagenéza a karcinogenéza. Metódy detekcie mutagénov a potenciálnych karcinogénov, Amesov test.
9. Genetická rekombinácia v prokaryotickej bunke. Molekulárny mechanizmus všeobecnej rekombinácie. Mechanizmy transferu DNA z donora do recipienta u baktérií.
10. Oprava poškodenej DNA – reparačné mechanizmy v prokaryotickej bunke. Fotoreaktivácia, reparácia poškodenia DNA excíziou, postreplikačný reparačný proces. Význam štúdia reparačných mechanizmov, patobiológia reparačných procesov v DNA u vyšších organizmov (karcinogenéza, starnutie).
11. Transformácia. Objav transformačného princípu, koncepcia DNA ako genetického materiálu. Základné mechanizmy transformácie a transfekcie. Efektívnosť transformácie, metódy transformácie baktérií.
12. Transdukcia. Objav transdukcie u baktérií. Generalizovaná a špecializovaná transdukcia. Bakteriofág P22 a bakteriofág lambda. Fágová konverzia.
13. Konjugácia. Objav bakteriálnej konjugácie. Mechanizmus transferu DNA počas konjugácie. Faktor F, kmene F⁻, F⁺ a Hfr. Prerušovaná konjugácia, genetická mapa chromozómu *Escherichia coli* K-12. Ekologický a medicínsky význam bakteriálnej konjugácie.
14. Biológia plazmidov. Štruktúra a replikácia plazmidov. Vyriedňovanie plazmidov z buniek. Konjugatívne a nekonjugatívne plazmidy. Vlastnosti baktérií kódované na plazmidovej

DNA. Plazmidy kódujúce rezistenciu proti antibiotikám, ich pôvod a medicínsky význam. Využitie plazmidov v genetickom inžinierstve.

15. Transpozibilné elementy prokaryotov – inzerčné sekvencie, transpozóny, vírusy. Objav a molekulárne mechanizmy transpozície, miestne-špecifická rekombinácia. Bakteriofág Mu. Invertibilná DNA, mechanizmus fázovej variácie u baktérií rodu *Salmonella*.
16. Transkripcia v eukaryotických bunkách. Modifikácia eukaryotickej mRNA. Základné rozdiely medzi prokaryotickou a eukaryotickou transkripciou.
17. DNA replikácia ako základný proces. Štruktúra, funkcia a regulácia plazmidových replikónov.
18. Interakcia DNA a bielkoviny – metódy štúdia.
19. Etapy konštrukcie rekombinantných DNA. Konštrukcia génových bánk. Etapy konštrukcie génových knižníc (genómové a cDNA) a ich využitie. Princípy izolácie génov.
20. RNA polymerázy – rozdiely v prokaryotickej a eukaryotickej bunke, rozdiely v eukaryotických RNA polymerázach.
21. Vlastnosti a funkcia DNA polymeráz. PCR metóda a jej využitie v technikách rekombinantných molekúl DNA (Princíp, podmienky, design primerov, variácie techniky: asymetrická PCR, inverzná PCR, PCR s reverznou transkriptázou, ligázová reťazová reakcia, panhandle PCR, linker-ligation mediated PCR, real-time PCR, *in vitro* selekcia nukleových kyselín s katalytickou aktivitou.)
22. Regulácia génov prostredníctvom antisense RNA.
23. Základné typy expresných vektorov. Kritériá kladené na expresné vektory. Regulačné signály kontrolujúce expresiu génov. Medzidruhové bariéry expresie génov a ich prekonanie. Metódy cielej nadprodukcie bielkovín a problémy expresie cudzorodých génov.
24. Štruktúra a topologické stavy molekuly DNA, DNA topoizomerázy a ich funkcia.
25. Rozdiely prokaryotického a eukaryotického genómu.
26. Techniky hybridizácie nukleových kyselín a príprava prób. Značenie molekúl na 5' a 3' koncoch, nick-translation, random primer, rádioaktívne a nerádioaktívne techniky. Hybridizácia nukleových kyselín. Southern a Northern blotting, *in situ* hybridizácia, subtraktívna hybridizácia, RNase protection assay, heteroduplexné mapovanie, PNA a antisense sondy. Technológia DNA-microarray.
27. Selekcia a analýza rekombinantov. Selekcia (negatívna, neutrálna, pozitívna, α -komplementácia) a analýza rekombinantov (komplementácia, fyzikálna analýza, funkčná detekcia, hybridizačné a imunologické metódy).
28. *In vitro* mutagenéza. Metódy site-directed mutagenézy a jej praktické využitie.
29. Sekvenovanie nukleových kyselín. História vývoja metód sekvenovania NK. Metódy sekvenovania DNA (Sanger, Maxam-Gilbert). Súčasný trendy v technológii sekvenovania DNA. Projekty sekvenovania kompletných genómov.
30. Princípy funkčnej analýzy kompletných genómov. Princípy analýzy transkriptómov a proteómov. Používané metódy. "Systems biology".