

Okruhy otázok prijímacieho konania na študijné programy magisterského štúdia v programoch – Molekulárna biológia a Biotechnológia

Pre akademický rok 2023/2024

Organizácia genómu v prokaryotickej a eukaryotickej bunke – fyzikálna a chemická štruktúra DNA a štruktúra RNA.

Transkripcia – organizácia promótorov. Interakcia RNA polymeráza - promótor. Sila promótorov, jej určenie. Metódy štúdia interakcie bielkovina - DNA.

Translácia – zloženie translačného aparátu, iniciácia translácie v prokaryotickej a eukaryotickej bunke, štruktúra ribozómov.

DNA replikácia – lineárnych a kružnicových molekúl DNA, DNA polymerázy prokaryotickej a eukaryotickej bunke, replikácia priameho a zaostavajúceho vlákna, okazakiho fragmenty, štruktúra počiatku replikácie,

Operóny – *Laktózový operón* – (história lac-operónu, negatívna a pozitívna kontrola, katabolická represia, praktické využitie poznatkov o lac-operóne), *Tryptofánový operón* – (odlišnosti s lac-operónom, atenuácia a jej mechanizmus, iné regulácie založené na atenuácii, autogénna regulácia represora), *ara-operón*, *recA-operón*.

Regulácia expície na úrovni translácie – regulácia expície ribozomálnych proteínov

Bakteriofágy ako model molekulárnej biológie – využitie jednotlivých druhov mutácií, *Lytické fágy* - T-násobné bakteriofágy - všeobecné zákonitosti realizácie fágového genómu, bakteriofág T4, prepnutie hostiteľského metabolizmu, T4 objekt molekulárnej genetiky, bakteriofág T7. *Temperované bakteriofágy* – bakteriofág lambda - životný cyklus fága, lyzogénia a jej význam, hlavné gény regulujúce vývoj fága, bakteriofág Mu, jednovláknové bakteriofágy a využitie jednovláknových fágov.

Extrachromozómové DNA – plazmidy (rozdelenie plazmidov, regulácia replikácie plazmidov, počet kópií plazmidov, regulácia cez antisens RNA, úloha replikačných proteínov.

Transpozícia, transdukcía, konjugácia, mobilizácia, rekombinácia – dynamika genómu inzerčné sekvencie, zložené transpozóny, retrotranspozóny, P1 transdukcía a jej využitie, transformácia, transfekcia, deriváty transpozónov, inzerčné sekvencie, *in vivo* klonovanie génov.

Kontrola génovej expície v eukaryotickej bunke – porovnanie expície u prokaryotov a eukaryotov, eukaryotické mRNA, transkripčné jednotky - jednoduché a komplexné, chromozómová organizácia génov u nižších a mnohobunkových eukaryotov.

Eukaryotická transkripcia – metódy štúdia transkriptov - „run-on“ analýza, Northern blot hybridizácia, RT-PCR, DNA- „microarrays,, – celogenómová analýza génovej expície. Iniciácia transkripcie – podobnosti a odlišnosti medzi baktériami a eukaryotami, základný transkripčný aparát, regulačné elementy – promótory, promótor-proximálne elementy a enhancery, eukaryotické RNA polymerázy, transkripčné jednotky pre RNA polymerázu I – III.

mRNA processing – modifikácia koncov, štiepenie a polyadenylácia pre-mRNA, hnRNA a hnRNP, RNA-DNA hybridy a zostrih transkriptov, spliceozóm a cyklus zostrihu, alternatívny zostrih, zostrih pre-tRNA, RNA-editing.

Princípy prípravy rekombinantných DNA. Izolácia a purifikácia nukleových kyselín, elektroforetická separácia NK (horizontálna a vertikálna elektroforéza, PFGE, 2D elektroforéza), etapy konštrukcie

rekombinantných DNA, konštrukcia génových bánk, etapy konštrukcie génových knižníc (genómové a cDNA), princípy izolácie génov.

Enzymy v technikách rekombinantných DNA. Restriktázy a metylázy, DNA a RNA polymerázy, reverzné transkriptázy, ligázy, kinázy, fosfatázy, nukleázy (*ExoIII*, *S1*, *Bal31*, RNáza A, DNáza), proteázy. *In vitro* transkripcia. Princípy fyzikálneho mapovania nukleových kyselín (restrikčné mapy, *S1 mapping*).

Vlastnosti a typy vektorov. Všeobecné kritéria a typy klonovacích vektorov (plazmidy, fágy, cháróny, kozmidy, fagemidy, vírusové, YAC, MAC, BAC). Klonovacie, expresné a dvojfunkčné (*shuttle*) vektory. Techniky prenosu DNA do buniek. Hostiteľské kmene.

Selekcia a analýza rekombinantov. Selekcia (negatívna, neutrálna, pozitívna, α -komplementácia) a analýza rekombinantov (komplementácia, fyzikálna analýza, funkčná detekcia, hybridizačné a imunologické metódy).

Metódy heterológnej expresie. Kritériá kladené na expresné systémy. Vektory, hostitelia, expresné systémy, sekrecia. Regulačné signály kontrolujúce expresiu génov. Medzidruhové bariéry expresie génov a ich prekonanie.

***In vitro* mutagenéza.** Metódy *site-directed* mutagenézy a jej praktické využitie.

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. *DNA-chip* technológia.

Polymerázová reťazová reakcia (PCR). Princíp, podmienky, *design* primerov, variácie techniky: asymetrická PCR, inverzná PCR, PCR s reverznou transkriptázou, ligázová reťazová reakcia, kvantitatívna PCR.

Sekvenovanie nukleových kyselín. História vývoja metód sekvenovania NK. Metódy sekvenovania DNA (Sangerova metóda na automatických DNA sekvenátoroch a metódy sekvenovania novej generácie).

Princípy funkčnej analýzy kompletných genómov. Projekty sekvenovania kompletných genómov a základy ich funkčnej analýzy. Princípy analýzy transkriptómov a proteómov.

Literatúra:

1. Bruce Alberts, Alexander Johnson, Julian Lewis, Martin Raff, Keith Roberts, and Peter Walter (2002) *Molecular biology of the cell*. 4th edition. New York: Garland Science, ISBN-10: 0-8153-3218-1 ISBN-10: 0-8153-4072-9
2. Harvey Lodish, Arnold Berk, Lawrence Zipursky, Paul Matsudaira, David Baltimore, and James Darnell. (2000) *Molecular cell biology* 4th edition. New York: W. H. Freeman, ISBN-10: 0-7167-3136-3
3. Jocelyn E. Krebs, Elliott S. Goldstein and Stephen T. Kilpatrick. *Lewin's GENES X*. ISBN-13: 9780763766320
4. Rosypal (1999) *Úvod do molekulárnej biológie*. I, II, III. Brno
5. Michael R. Green and Joseph Sambrook (2012) *Molecular cloning: A laboratory manual*. 4th edition. Cold Spring Harbor Laboratory Press. ISBN-10: 1936113422, ISBN-13: 978-1936113422
6. Turňa a kol. (1989) *Rekombinantné DNA a biotechnológia*. Alfa, Bratislava.
7. Turňa a kol. (2004) *Techniky rekombinantných DNA*. Veda, Vydavateľstvo SAV.
8. Watson, J.D., M.Gilman, J. Witkowski and M.Zoller (1992) *Recombinant DNA*. 2nd ed. Scientific American Books.

Biotechnológia

1. **Klasické a moderné biotechnológie** – delenie a ich obsah, zdroje a zariadenia pre biotechnológie; nástroje pre genetické modifikácie; tvorba a využitie GMO v modernej biotechnológii
2. **Mikroorganizmy v klasických a moderných biotechnológiách.** Fyziológia a rôznorodosť mikroorganizmov vo vzťahu k ich biotechnologickému využitiu, identifikácia, uchovávanie kultúr; svetové zbierky mikroorganizmov
3. **Klasické BT** – mikrobiálna produkcia primárnych a sekundárnych metabolitov (fermentačné technológie, produkcia aminokyselín, organických kyselín, vitamínov, biopolymérov, antibiotík)
4. **Mikroorganizmy ako zdroj proteínov** – enzýmy využiteľné v priemysle, v molekulárnej biológii, reportérové proteíny, terapeutické proteíny. Mikroorganizmy v boji proti mikroorganizmom – antibiotiká, vakcíny, bakteriocíny.
5. **Biodiverzita mikroorganizmov** – molekulárna taxonómia mikroorganizmov – analýza biodiverzity - identifikácia a klasifikácia, význam ribozómovej RNA, metódy a prístupy pre kultivovateľné druhy, DNA fingerprinting, molekulárne metódy a prístupy pre analýzu mikróbných spoločenstiev; bioprospecting – hľadanie nových génov.
8. **Agrobiotechnologie rastliny I. II a II. generácie**, vnesené gény a ich úloha; metódy prípravy transgénnych rastlín.
9. **Biofarmácia I, vývoj a výroba biofarmaceutík**, povoľovací proces nových liečiv, schvaľovací proces v USA a Európe, etická komisia, správna výrobná prax, ochrana dát, ochrana duševného vlastníctva, výrobný proces biofarmaceutík.
10. **Biofarmácia II, Produkčné organizmy**, cytokíny, hormóny, krvné produkty a enzýmy, protilátky a vakcíny.
11. **Enviromentálna biotechnológia**, bioprospekting, bioremediácie, detoxifikácia ťažkých kovov a rádionuklidov, biodetektory, odpady a biotechnológie, biodegradovateľné plasty.
12. **Potravinárske biotechnológie**, kategorizácia, geneticky modifikované rastliny, geneticky modifikované živočíchy, mikroorganizmy a potravinárske biotechnológie, „single cell protein“, legislatíva a GMO.
13. **Legislatíva a moderné biotechnológie**
14. **Základné princípy molekulárnej biológie využívané v biotechnológii**, organizácia genómu v prokaryotickej a eukaryotickej bunke, transkripcia a regulácia ptranskripcie, translácia, replikácia DNA, využitie bakteriofágov a plazmidov, transpozícia, metódy štúdia nukleových kyselín a prípravy rekombinantnej DNA

Odporúčaná literatúra:

- Timko J, Siekel P, Turňa J.: Geneticky modifikované organizmy, VEDA, Bratislava, 2004
Valková D, Turňa J, Timko J.: Úvod do molekulárnej biotechnológie, VEDA, Bratislava 2005
Glick BR, Pasternak JJ: Molecular Biotechnology, Principles and Applications of Recombinant DNA, ASM Press, Washington, DC, 2003
Bruce Alberts, Alexander Johnson, Julian Lewis, Martin Raff, Keith Roberts, and Peter Walter (2002) Molecular biology of the cell. 4th edition. New York: Garland Science, ISBN-10: 0-8153-3218-1 ISBN-10: 0-8153-4072-9
Rosypal (1999) Úvod do molekulární biologie. I, II, III. Brno