Okruhy otázok z predmetu
"Molekulárna biológia a genetika mikroorganizmov a vírusov"
pre rigorózne skúšky

1. A. Štruktúra a funkcie nukleových kyselín v bunke. Interakcie nukleových kyselín s proteínmi. Replikácia DNA v prokaryotickej bunke. Metódy izolácie DNA z bakteriálnych buniek, PCR. Restrikčné a modifikačné enzýmy. Restrikčná analýza a elektroforéza DNA.

B. Štruktúra a funkcia bunkovej DNA, štruktúra a funkcia vírusových DNA

2. A. 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.

B. Štruktúra a funkcia vírusových RNA

3. A. Štruktúra a funkcie proteínov v bunke. Translácia v prokaryotickej bunke. Prokaryotické ribozómy, inhibítory proteosyntézy. Rozdiely medzi eubakteriálnou, archebakteriálnou a eukaryotickou proteosyntézou.

B. Štruktúra a funkcia proteínov. Včasné a neskoré vírusové proteíny

4. A. Genetický kód a jeho vlastnosti. Otvorené čítacie rámce, prekrývajúce sa gény.

B. Vlastnosti genetického kódu a metódy jeho analýzy – vo virológii.

5. A. 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.

B. Induktívno-represívna regulácia transkripcie, represorová teória Jacoba a Monoda – vo virológii

6. A. Regulácia aktivity enzýmov v prokaryotickej bunke. Inhibícia produktom reakcie, inhibícia spätnou väzbou, kovalentné modifikácie proteínov. Rast a regulácia syntézy makromolekúl, stimulón, regulón.

B. Papilomavírusy. Štruktúra genómu, infekčný cyklus, skorá transkripcia, funkcia skorých proteínov, neskorá transkripcia, funkcia neskorých proteínov, replikačný cyklus.

7. A. Gén, mutácia, genetická rekombinácia. Typy mutantov, metódy izolácie mutantov. Molekulárna podstata mutácie, typy mutácií.

B. Retrovírusy. Najvýznamnejšie retrovírusy a ochorenia, s ktorými sú asociované, štruktúra vírusu, štruktúra genómu, reverzná transkriptáza, integráza, replikačný cyklus, transformácia buniek retrovírusmi.

8. A. 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.

B. Antigénny drift a antigénny shift.

9. A. Genetická rekombinácia v prokaryotickej bunke. Molekulárny mechanizmus všeobecnej rekombinácie. Mechanizmy transferu DNA z donora do recipienta u baktérií.

B. Replikácia DNA vírusov, replikácia pomocou rotujúcej kružnice, replikácia vytláčaním vlákna a pod.

10. A. 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).

B. Polyomavírusy. Štruktúra DNA, skoré a neskorá transkripcia, T-antigény, replikačný cyklus.

11. A. Transformácia. Objav transformačného princípu, koncepcia DNA ako genetického materiálu. Základné mechanizmy transformácie a transfekcie. Efektívnosť transformácie, metódy transformácie baktérií.

B. Transformácia buniek papilomavírusmi, polyomavírusmi a adenovírusmi. Interakcia včasných vírusových proteínov s bunkovými proteínmi rB a p53

12. A. Transdukcia. Objav transdukcie u baktérií. Generalizovaná a špecializovaná transdukcia. Bakteriofág P22 a bakteriofág lambda. Fágová konverzia.

B. Lytický cyklus a lyzogénia fága lambda

13. A. 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.

B. Adenovírusy. Štruktúra genómu, infekčný cyklus, funkcia skorých a neskorých proteínov, replikácia vírusu, adenovírusy ako vektor.

14. A. Biológia plazmidov. Štruktúra a replikácia plazmidov. Vyrieďovanie 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.

B. Latentná herpetická infekcia. Úloha včasných vírusových génov pri navodení, udržiavaní a aktivácii latencie. Dynamická a statická latencia, fluktuačný model latencie. Rekrudescencia a rekurencia

15. A. 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*.

B. Apoptóza a autofágia, obranné mechanizmy živočíšnej bunky. Únikové mechanizmy vírusov

16. A. Rozdiely prokaryotického a eukaryotického genómu. Modelové organizmy v štúdii genetiky eukaryotických mikroorganizmov

B. Hepadnavírusy. Štruktúra genómu, replikácia vírusu, úloha reverznej trakskriptázy.

17. A. DNA replikácia ako základný proces. Štruktúra, funkcia a regulácia plazmidových replikónov.

B. Replikácia a transkripcia dvojvláknovej vírusovej RNA

18. A. Transkripcia v eukaryotických bunkách. Modifikácia eukaryotickej mRNA. Základné rozdiely medzi prokaryotickou a eukaryotickou transkripciou.

B. Replikácia jednovláknovej vírusovej RNA s (+) polaritou

19. A. Štruktúra a topologické stavy molekuly DNA, DNA topoizomerázy a ich funkcia.

B. Replikácia jednovláknovej vírusovej RNA s (-) polaritou

20. A. RNA polymerázy – rozdiely v prokaryotickej a eukaryotickej bunke, rozdiely v eukaryotických RNA polymerázach.

B. Poxvírusy. Štruktúra genómu, expresia génov, regulácia skorých, intermediálnych a neskorých génov, replikácia

21. A. Genetický systém kvasiniek. Extrachromozoálne genetické elementy. Eukaryotické plazmidy. Killer systém kvasiniek. Kvasinkové retrotranspozóny. Prióny kvasiniek.

B. Molekulárna biológia priónov a priónových ochorení

22. A. Životný cyklus perfektných kvasiniek. Bunkový cyklus. Konjugácia. Meióza a sporulácia. Odpočinkový stav. Uzlová kontrola diferenciácie.

B. Bunyavírusy. Organizácia genómu, regulácia trankripcie a replikácie. Replikácia Bunyavírusov s ambisense RNA.

23. A. Genetika párovacích typov kvasiniek. Kazetový model prepínania párovacieho typu. Rekombinácia.

B. Genóm papilomavírusov, polyomavírusov a adenovírusov. Charakteristika včasných promótorov a včasných vírusových génov a ich úloha pri replikácii.

24. A. Genetická analýza kvasiniek. Tetrádová analýza. Rozlíšenie mimojadrovej a jadrovej dedičnosti. Rekombinácia. Hromadná analýza spór.

B. Genóm a genetika retrovírusov. Vírusové gény a ich produkty. Vírusové mutanty. Heterozygóza, rekombinácia a komplementácia retrovírusov. Evolúcia retrovírusov, retróny, retrosekvencia, retrotranspozóny a podobné sekvencie

25. A. Kvasinkové plazmidové vektory. Transformácia kvasiniek. Techniky rekombinantnej DNA. Etapy konštrukcie rekombinantných DNA. Konštrukcia génových bánk.. Etapy konštrukcie génových knižníc (genómové a cDNA) a ich využitie. Základné typy expresných vektorov. Kritériá kladené na expresné vektory. Regulačné signály kontrolujúce expresiu génov. Medzidruhové bariéry expresie génov a ich prekonanie.

B Mechanizmy transformácie buniek retrovírusmi. Bunkové a vírusové onkogény, inzerčná mutagenéza s retrovírusmi. Endogénne retrovírusy a virogénia

26. A. 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.)

B. Vírus Epsteina a Barrovej. Mechanizmy imortalizácie B-lymfocytov. Úloha EBNA antigénov

27. A. 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.

B. Arenavírusy. Organizácia genómu, transkripcia a replikácia.

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

B. Lymfotropné retrovírusy: HIV, HTLV-I. Úloha vírusových regulačných génov pri replikácii vírusov, resp.transformácii

29. A. Sekvenovanie nukleových kyselín. História vývoja metód sekvenovania NK. Metódy sekvenovania DNA (Sanger, Maxam-Gilbert). Súčasné trendy v technológii sekvenovania DNA. Projekty sekvenovania kompletných genómov.

B. Živočíšne vírusy ako vektory. Poxvírusy, retrovírusy, bakulovírusy

30. B. Mechanizmy rezistencie bakteriálnej bunky voči vírusovej infekcii, RM- systémy, CRISPR/cas sekvencie, Abi systémy.

B.Ortomyxovírusy. Štruktúra genómu, transkripcia, replikácia, splicing, cap snaching, stuttering, úloha nekódujúcich nukleotidov.

31. A. Princípy funkčnej analýzy kompletných genómov. Princípy analýzy transkriptómov a proteómov. Používané metódy. "Systems biology".

B. Herpetické vírusy a onkogenéza. Experimentálna transformácia buniek herpetickými vírusmi, predpokladané mechanizmy transformácie