Státnicové okruhy KBI/SZZA1 Základy molekulární biologie

1. Definujte pojmy gen a genom. Popište rozdíly ve struktuře genomu prokaryot a eukaryot.

2. Uveďte čtyři hlavní enzymy působící při replikaci DNA a vysvětlete jejich funkce.

3. Vysvětlete účel a vznik Okazakiho fragmentů.

4. K jakým typům poškození DNA dochází a jaké jsou možnosti opravy?

5. Který enzym katalyzuje tvorbu mRNA? Popište hlavní rozdíly v transkripci u prokaryot a eukaryot.

6. Které proteiny řídí expresi genů? Popište dva základní principy regulace genové exprese u prokaryot.

7. Vysvětlete princip genetického kódu. Které enzymy zajišťují přiřazení správné aminokyseliny k nukleotidové sekvenci.

8. Vysvětlete rozdíly ve způsobu navázání mRNA na ribosom u prokaryot a eukaryot a popište jednotlivé kroky translace.

9. Jak je řízeno skládání proteinů po jejich syntéze na ribosomu a jejich translokace mezi jednotlivými kompartmenty v eukaryotní buňce?

10. Jaké funkční elementy musí obsahovat klonovací vektor a jak je do něj možno vložit insert?

11. Vysvětlete rozdíl v postupu přípravy genomové DNA knihovny a cDNA knihovny. Jak lze nalézt v takovýchto knihovnách hledaný klon?

12. Vysvětlete stručně princip PCR a možnost využití PCR při klonování.

13. Vysvětlete princip enzymové (dideoxy) metody sekvenování DNA.

14. Jak lze provést a k čemu se používá afinitní značení proteinů?

15. Vysvětlete principy metod vnesení DNA obsahující nový gen do buňky u baktérií a rostlin.

16. Vysvětlete termíny karyotyp, karyogram a idiogram. Popište strukturu metafázického chromozomu a základní tvary chromozomů. Uveďte příklady zvláštních typů chromozomů.

17. Popište meiotické jaderné dělení s důrazem na genetické důsledky meiózy.

18. Vysvětlete Mendlova pravidla a uveďte výjimky z jejich platnosti.

19. Popište základní typy intragenových interakcí.

20. Popište základní typy intergenových interakcí a uveďte fenotypové štěpné poměry v F2 generaci potomstva dihybrida v případě volné kombinovatelnosti genů.

21. Na základě zpětného testovacího křížení dihybrida vysvětlete pojmy: volná kombinovatelnost vloh, genová vazba, vazbová fáze CIS aTRANS, rekombinované a rodičovské gamety, genetická (rekombinační) vzdálenost, Morganovo a Batesonovo číslo.

22. Popište princip a využití třílokusového testu. Které faktory ovlivňují odhad genetické (rekombinační) vzdálenosti?

23. Popište základní typy chromozomální determinace pohlaví u rostlin a živočichů a strukturu pohlavních chromozomů.

24. Popište genotypovou úroveň determinace pohlaví u *Drosophila melanogaster* a savců včetně člověka.

25. Popište dědičnost znaků souvisejících s pohlavím.

26. Vysvětlete, na jakých genetických principech funguje polygenní dědičnost.

27. Definujte pojmy koeficient heritability a genetický zisk a popište metody jejich stanovení.

28. Popište princip homozygotizace a mechanizmus vzniku čistých linií. Popište genetické důsledky imbreedingu u rostlin a živočichů. Definujte heterózní efekt, jeho vlastnosti a využití.

29. Popište jednotlivé typy genových mutací a jejich možné fenotypové účinky.

30. Popište základní typy chromozomových a genomových mutací.

31. Definujte Hardy-Weinbergův zákon a podmínky jeho platnosti. Popište faktory, které narušují rovnováhu populace.

32. Popište základní postupy izolace celkové buněčné DNA z bakteriálních, rostlinných a živočišných buněk a metody ověření její kvality.

33. Popište základní postupy extrakce plazmidové DNA a metody ověření její kvality.

34. Stručně charakterizujte enzymy, které se používají k manipulaci s DNA. Podrobně se zaměřte na enzymy specificky štěpící DNA a na jejich význam v genovém inženýrství.

35. Na jakém principu je založena metoda klonování Gateway? Jak se liší od klasického klonování s využitím restrikčních míst?

36. Popište postupy využívané pro lokalizaci genu na malé a velké molekule DNA.

37. Popište základní metody využívané pro analýzu genové exprese.

38. Popište základní přístupy využívané pro sekvenaci genomů. Jakým způsobem jsou využívány mapy pro sestavení genomické sekvence?

39. Definujte transkriptom a proteom. Popište metody, které jsou využívány pro jejich studium.

40. Vysvětlete termín genová terapie. Jaké znáte základní techniky genové terapie a jaké je jejich využití?

41. Popište možná rizika spojená s využíváním geneticky modifikovaných rostlin.

Státnicové okruhy KBI/SZZA2 Základy biotechnologie

1/ Biotechnologie - definice, historie, rozdělení, využití, význam

2/ Modelové organismy používané v biotechnologiích – prokaryotické a eukaryotické, jejích vlastnosti a využití

3/ Principy genového inženýrství – definice, cíle genetických modifikací, techniky, aplikace/využití genetických modifikací

4/ Mikrobiální biotechnologie - základní charakteristika, využití, genetické manipulace mikroorganizmů a jejích biotechnologické využití

5/ Mikrobiální biotechnologie – etanolové kvašení, výroba piva, vína

6/ Výroba biomasy pomocí mikroorganizmů - typy mikrobiální produkce, fáze růstu mikrobiálních kultur, výroba droždí, produkce organických kyselin

7/ Výroba biomasy pomocí mikroorganizmů – produkce aminokyselin, enzymů, strategie genového inženýrství u mikroorganizmů

8/ Mikrobiální produkce biofarmaceutických/terapeutických proteinů – sekundární metabolity, inzulin, růstových hormon, interferony, mikrobiální produkce antibiotik, monoklonálních protilátek, biopolymerů, biosurfaktantů

9/ Živočišná biotechnologie – využití, aplikace transgenních živočichů, způsoby tvorby transgenních živočichů: jaderní mikro injektáž-klonování živočichů, tvorba myší pomocí transgenních technologií, knockout myši pro medicinální výzkum, alternativní metody tvorby transgenních zvířat; transgenní hmyz

10/ Medicinální biotechnologie – využití monoklonálních protilátek, farmakogenomika, biofarmaceutika a jejich využití, regenerativní medicína

11/ Medicinální biotechnologie - genová terapie, obecný postup genové terapie, Downův syndrom, cystická fibróza, svalová dystrofie, fenylketonurie

12/ Environmentální biotechnologie a průmyslové aplikace biotechnologií - biosenzory, biokatalýza, procesy bioremeditace, biologické čistírny odpadních vod, ochrana životního prostředí, kompostování, produkce bioplastů, biopaliva

13/ Rostlinná biotechnologie – historie genetické modifikace rostlin, genové inženýrství - definice, techniky, aplikace, využití rostlinných pletivových kultur

14/ Princip transformace pomocí *A. tumefaciens*: geny virulence, přenos T-DNA do rostlin. Jiné druhy rodu Agrobacterium, metody tranzientní a stabilní transformace rostlin

15/ Složky transgénů - promotory, terminátory, polyadenylační signál, 5´nekódující region; umlčování genů - T-DNA inzerční mutageneze, RNAi techniky; ztráty aktivity transgenů - transkripční a posttranskripční inaktivace transgenu, mutace

16/ Reportérové geny a markerové linie, nejpoužívanější selekční systémy pro rostlinné transgeny

17/ Geneticky modifikované rostliny tolerantní k herbicidům a k hmyzím škůdcům - základní charakteristika, příprava, biotechnologický význam a využití

18/ Etika a biotechnologie - lidská práva a bioetika, humánní genetika a její etické implikace, biotechnologie a příroda, ekonomika, věda a komunikace, zákonodárství a schválení biotechnologických produktů

19/ Stres ze sucha a nízkých teplot u rostlin. Odpověď rostlin na stres ze sucha a nízkých teplot. Biotechnologické možnosti zvýšení odolnosti rostlin vůči stresu ze sucha a nízkých teplot.

20/ Stres z těžkých kovů a xenobiotik. Mechanizmus jejich nepříznivého vlivu a rostlinné odpovědi na tyto stresy. Biotechnologické možnosti zvýšení odolnosti rostlin vůči stresu z těžkých kovů a xenobiotik.

21/ Oxidativní stres. Odpověď rostlin na oxidativní stres; typy, tvorba a funkce reaktivních kyslíkových radikálů; struktura a funkce NADPH oxidázy. Biotechnologické možnosti zvýšení odolnosti rostlin vůči oxidativnímu stresu.

22/ Osmotický stres a stres ze zasolení. Odpověď rostlin na tyto stresy a biotechnologické možnosti zvýšení odolnosti rostlin.

23/ Biotický stres. Odpověď rostlin na biotický stres. Vznik bakteriální rezistence u rostlin. Imunitní a fyziologické odpovědi rostlin. Biotechnologické možnosti zvýšení odolnosti rostlin vůči biotickému stresu.

Státnicové okruhy KBI/SZZA3 Základy buněčné biologie

1. Strukturní a funkční kompartmentalizace prokaryotické a eukaryotické buňky

2. Rozdíly mezi živočišnou a rostlinnou buňkou

3. Buněčná stěna a extracelulární matrix – stavba a funkce

4. Plasmatická membrána – stavba a funkce

5. Exocytóza, endoplasmatické retikulum, Golgiho aparát, post-Golgi kompartmenty

6. Endocytóza, (fagocytóza, pinocytóza), endozómy (rozdělení a funkce), vakuola, lyzozóm

7. Cytoskelet u rostlin a živočichů (aktinové vlákna, mikrotubuly, intermediární vlákna)

8. Signalizace v eukaryotických buňkách

9. Motorové proteiny a pohyb organel v eukaryotických buňkách

10. Buněčné jádro a jadérko – struktura a funkce

11. Plastidy – rozdělení plastidů, jejich struktura a funkce

12. Mitochondrie – struktura a funkce

13. Peroxizómy, glyoxizómy a lipozómy – jejich struktura a funkce

14. Dělení buněk, typy dělení, buněčný cyklus (fáze, kontrolní body a regulace)

15. Mitóza – jednotlivé fáze a jejich funkce

16. Meióza – jednotlivé fáze a jejich funkce

17. Oplodnění (fertilizace) u rostlin a živočichů, zygota

18. Kmenové buňky u živočichů a rostlin, totipotence a pluripotence

19. Embryogeneze u rostlin a živočichů

20. Vývoj a klíčení semen u rostlin (embryo, endosperm a obaly)

21. Post-embryonální vývoj u živočichů a rostlin

22. Polarita a růst buněk, vznik pletiv, tkání a orgánů

23. Rozdělení a funkce pletiv a tkání u rostlin a živočichů

24. Primární a sekundární meristémy u rostlin

25. Mezibuněčné interakce u rostlin a živočichů, struktura a funkce (plasmodesmy, těsné spoje, mezerové spoje, desmozom, zonula adherens)

26. Vývoj pohlavních buněk u rostlin a živočichů

27. Metamorfóza u živočichů

28. Vývoj kořenů u rostlin

29. Vývoj stonku a listu u rostlin

30. Vývoj květu a plodu u rostlin

31. Symbióza a mykorhiza mezi rostlinami a mikroorganizmy

32. Vizualizace eukaryotických buněk – světelná a fluorescenční mikroskopie, barviva, autofluorescence, fixace, imunolokalizace

33. Vizualizace organel a kompartmentů v živých buňkách, vitální barviva, GFP technologie, laserová konfokální mikroskopie

34. Systém krycích pletiv u rostlin, epidermis, specializované epidermální buňky podzemní a nadzemní části rostlin

35. Systém vaskulárních pletiv u rostlin, xylém, floém, sekundární tloustnutí

Státnicové okruhy KBI/SZZA4 Základy chemie a biochemie

1. **Aminokyseliny a peptidy.** Proteinogenní aminokyseliny: chemická struktura (vzorce), klasifikace, acidobazické vlastnosti, isoelektrický bod, optická aktivita. Peptidy: peptidová vazba, torzní úhly, názvosloví peptidů. Příklady přírodních peptidů a jejich role. Merrifieldova syntéza peptidů.
2. **Proteiny.** Primární, sekundární, terciární a kvartérní struktura proteinů; vazebné interakce vedoucí ke vzniku prostorových struktur. Klasifikace proteinů (podle struktury, složení a funkce) s příklady. Struktura protilátek a jejich použití v biochemických metodách (ELISA, přenos s imunodetekcí). Rentgenová strukturní analýza proteinů.
3. **Metody studia proteinů.** Metody pro separaci a analýzu proteinů (precipitační, centrifugační, chromatografické, elektromigrační, spektroskopické – přehled použití). Analýza aminokyselinové sekvence, Edmanova degradace, identifikace proteinů hmotnostní spektrometrií. Stanovení koncentrace proteinů (instrumentální metody). Posttranslační modifikace proteinů a jejich analýza.
4. **Enzymy.** Definice enzymu, katalytická síla enzymů, specifičnost. Vztah k reakční rovnováze a aktivační energii reakce. Modely interakce enzymu se substrátem. Klasifikace a názvosloví enzymů, aktivní místo. Metody studia aktivních míst enzymů (chemická modifikace, mutageneze). Měření enzymové aktivity.
5. **Kofaktory a koenzymy.** Základní charakteristika (rozdíl mezi pojmy kofaktor, koenzym a prostetická skupina). Koenzymy oxidoreduktas a transferas, role iontů kovů v enzymech. Warburgův optický test. Stanovení ATP pomocí luciferasy.
6. **Enzymová kinetika a studium interakcí.** Rovnice Michaelise a Mentenové, definice a význam konstant K_m a V_{lim}. Stanovení kinetických parametrů – grafické vyhodnocení měření. Jednotky enzymové aktivity, vliv pH a teploty na rychlost enzymové reakce. Kalorimetrické metody, resonance povrchových plasmonů (SPR) a jejich využití.
7. **Inhibice enzymové aktivity a allosterické enzymy.** Reverzibilní a ireversibilní inhibice, typy reversibilních inhibicí, grafické vyhodnocení měření inhibiční konstanty. Allosterické enzymy, princip allosterie, význam allosterických aktivátorů a inhibitorů. Příklady alosterických enzymů a jejich úlohy v regulaci metabolismu.
8. **Sacharidy a lipidy.** Monosacharidy, disacharidy, polysacharidy. Pojmy mutarotace a glykosidová vazba. Lipidy a jejich význam. Tuky, mastné kyseliny, lipoproteiny, fosfolipidy, glykolypidy. Cholesterol a jeho prekurzory, žlučové kyseliny. Biologický význam lipidů, struktura biomembrán, membránové lipidy.
9. **Nukleové kyseliny.** Prostorová struktura nukleových kyselin, párování bazí, typy DNA dvoušrobovic. Primární a sekundární struktura RNA, typy RNA a jejich význam (rRNA, mRNA, tRNA, miRNA, siRNA, ribozymy). Restrikční endonukleasy a jejich použití.
10. **Glykolýza.** Význam v kontextu celého metabolismu, lokalizace v buňce. Dílčí reakce glykolýzy, enzymy klíčové pro regulaci glykolýzy a mechanismy regulace. Varianty návazné přeměny pyruvátu, vstup jiných monosacharidů. Pojem substrátová fosforylace.
11. **Glukoneogeneze.** Klíčové kroky glukoneogeneze, lokalizace na úrovni orgánů člověka a v buněčných kompartmentech. Srovnání glykolýzy a glukoneogeneze – společné a odlišné znaky, regulace glukoneogeneze. Matebolické články.
12. **Pentosafosfátová dráha**. Význam v kontextu celého metabolismu. Lokalizace, dílčí reakce, propojení s glykolýzou, regulace hladiny pentos a hexos, NADPH a ATP. Srovnání reakcí vzájemné přeměny sacharidů – isomerace, epimerace, aldolasová, transaldolasová a transketolasová reakce.

13. **Metabolismus glykogenu**. Charakteristika a lokalizace glykogenu, degradace glykogenu, glykoneogeneze, zúčastněné enzymy. Regulace metabolismu glykogenu na úrovních hormonální regulace a posttranslační modifikace proteinů.
14. **Oxidační dekarboxylace pyruvátu a citrátový cyklus.** Pyruvátdehydrogenasový komplex, dílčí reakce a koenzymy. Tvorba citrátu, další průběh citrátového cyklu. Energetický výtěžek a principy regulace citátového cyklu, anaplerotické a kataplerotické reakce. Glyoxylátový cyklus – základní charakteristika a význam.
15. **Dýchací řetězec a oxidační fosforylace.** Enzymové komplexy dýchacího řetězce, zúčastněné koenzymy, Q cyklus. Tvorba protonového gradientu, spřažení dýchacího řetězce a oxidační fosforylace. Struktura a fungování ATP synthasy, regulace oxidační fosforylace.
16. **Mastné kyseliny a ketolátky**. Aktivace mastných kyselin, transport přes vnitřní mitochondriální membránu, β-oxidace a její specifika pro různé typy mastných kyselin, role vitaminu B12. Rozdíly při odbourání mastných kyselin v mitochondriích a peroxisomech. Tvorba ketolátek, význam ketolátek při hladovění a diabetu.
17. **Biosyntéza mastných kyselin a cholesterolu**. Transport acetyl-CoA přes vnitřní mitochondriální membránu, vznik malonyl-CoA. Komplex synthasy mastných kyselin a katalyzované reakce. Vznik kyseliny mevalonové a isopentenyldifosfátu. Skvalen. Chemická struktura cholesterolu a odvozené látky.
18. **Degradace proteinů a aminokyselin**. Enzymy podílející se na degradaci proteinů, ubikvitinylace proteinů, proteasom. Transaminace, oxidační deaminace a dekarboxylace aminokyselin. Význam glutamátdehydrogenasy a glutaminsynthetasy.
19. **Odbourávání uhlíkové kostry aminokyselin.** Rozdělení aminokyselin na glukogenní, ketogenní, gluko+ketogenní. Přehled sedmi konečných produktů odbourání. Role kyseliny listové. Dědičné metabolické choroby související s metabolismem aminokyselin.
20. **Močovinový cyklus.** Dílčí reakce, regulace a význam močovinového cyklu. Vztah mezi citrátovým a močovinovým cyklem.
21. **Fotosyntéza**. Světelná fáze: fotosyntetické pigmenty, komplexy v membráně thylakoidů, Z-schéma, fotolýza vody, cyklická a necyklická fosforylace, tvorba NADPH.
22. **Calvin-Bensonův cyklus**. Temnostní fáze fotosyntézy, charakteristika enzymu RUBISCO, produkce hexos, regenerace akceptoru CO_2, fotorespirace a její průběh. Rozdíly ve fixaci CO_2 u rostlin.
23. **Metabolismus nukleotidů.** Porovnání biosyntézy a odbourávání purinových a pyrimidinových nukleotidů, tvorba deoxyribonukleotidů. Enzym xanthinoxidasa a vznik kyseliny močové. Metabolické poruchy související s metabolismem nukleotidů.
24. **Replikace, transkripce a translace.** DNA polymerasa a její význam pro replikaci. Okazakiho fragmenty. Telomery a telomerasa. Promotor a RNA-polymerasa. Genetický kód, ribosomy, proteinové faktory a jejich role v procesu translace. Základní principy regulace genové exprese (indukce a represe, atenuace, sekundární struktura mRNA, RNA interference).
25. **Metody analýzy DNA.** Polymerasová řetězová reakce, elektroforéza DNA. Metody analýzy sekvence DNA (Sangerova metoda, pyrosekvencování, nejnovější metody sekvencování - NGS). Stanovení koncentrace DNA a RNA.