

## Okruhy KBI/SZZA5 Biotechnologie - magisterské studium

1. Biotechnologie a biotechnologické plodiny - definice, využití, význam.
2. Význam pěstování biotechnologických plodin - cíle genetických modifikací.
3. Metody přípravy biotechnologických plodin pomocí genového inženýrství - definice, techniky, aplikace.
4. Nejpoužívanější selekční systémy při přípravě biotechnologických plodin.
5. Kukuřice - základní charakteristika, transformační techniky, selekční systémy, Bt-kukuřice - biotechnologický význam, příprava a využití.
6. Rýže setá - základní charakteristika, transformační techniky, selekční systémy, zlatá rýže - biotechnologický význam a využití.
7. Pšenice setá - vznik, základní charakteristika, transformační techniky, selekční systémy, biotechnologie, význam a využití.
8. Ječmen setý - základní charakteristika, transformační techniky, selekční systémy, biotechnologický význam, využití ječmene v rostlinném molekulárním farmářství.
9. Žito seté, Triticale, Oves setý - základní charakteristika, transformační techniky, selekční systémy, biotechnologický význam a využití.
10. Lilek brambor, cassava a Cukrová řepa - základní charakteristika, transformační techniky, selekční systémy, biotechnologický význam a využití.
11. Olejniný jako biotechnologické plodiny - základní charakteristika, transformační techniky, selekční systémy, biotechnologický význam a využití.
12. Luskoviny jako biotechnologické plodiny - základní charakteristika, transformační techniky, selekční systémy, biotechnologický význam a využití.
13. Rajče jedlé - základní charakteristika, transformační techniky, selekční systémy, biotechnologický význam, využití rajčete v rostlinném molekulárním farmářství.
14. Zákonodárství a schvalování biotechnologických produktů, posuzování žádostí o uvádění GMO a výrobků obsahujících GMO na trh, žádostí o polní pokusy s GMO, základní kompetentní orgány pro GMO v ČR.
15. Biotechnologický proces a jeho optimalizace. Kultivace a fermentační metody, konstrukce bioreaktorů, metody získání produktů z buněk a kultivačního média.
16. Využití mikroorganismů pro produkci alkoholových nápojů zejména piva a vína.
17. Využití mikroorganismů v potravinářství: produkce jogurtů, sýrů, SCP, EPS a fermentovaných masných výrobků.
18. Biotechnologie ve farmacii: Charakteristika jednotlivých produktů: antibiotika, antimykotika, kancerostatika, antivirové látky, imunosupresiva, alkaloidy, vitamíny a vakcíny.
19. Zpracování lignocelulosového materiálu pro produkci biopaliva. Mikroorganismy využívané v zemědělství: biohnojivá, mykorhiza a biokontrola škůdců.
20. Dekontaminace životního prostředí pomocí biotechnologicky připravených mikroorganismů. Metody bioremediace, biodegradace a čištění odpadních vod.
21. Transgenní zvířata, jejich definice, konstrukce a aplikace. Zvířecí chiméry - definice, produkce a aplikace, výhody/nevýhody u GMO myší, GMO slepic. GMO lidé - existují vůbec a jsou kolem toho kontroverze?
22. Produkce terapeutických a jinak významných proteinů, výrobní postupy, příklady terapeutických proteinů.

23. Transgenní buněčné linie, jejich konstrukce a aplikace. Typy používaných mamárních linií, způsoby transfekce, tranzientní vs. stabilní buněčné linie, srovnání bakteriálních, kvasinkových a mamárních buněčných expresních systémů (výhody, nevýhody), metody navýšení produkce u mamárních buněčných expresních systémů, reportérové linie (typy reportérů, aplikace).
24. Design a produkce terapeutických či jinak cenných protilátek a jejich aplikace v medicíně a výzkumu. Základy imunitního systému u vyšších obratlovců, skladba protilátky, komerční produkce protilátek, monoklonální vs polyklonální protilátky, chimerické a humanizované protilátky, konjugované protilátky, bi-specifické protilátky.
25. Kontroverze v oblasti biotechnologického výzkumu a aplikacích. Reproductivní vs terapeutické klonování u lidí, embryonální kmenové buňky (jejich původ, aplikace), proč jsou kontroverzní GMO plodiny a zvířata?
26. Klonování zvířat, nutné prekvizity, postupy, aplikace, kontroverze.
27. Vakcíny a vakcinace, historie, princip fungování, typy vakcín a jejich produkce, kontroverze u DNA a RNA vakcín.

## Okruhy KBI/SZZA6 Genové inženýrství - magisterské studium

1. Metody hybridizace DNA a RNA, příprava hybridizačních sond
2. Restriční endonukleasy, typy, funkce a způsoby využití
3. Tvorba rekombinantní DNA, principy molekulárního klonování
4. Klonovací vektory, struktura, typy a způsoby použití
5. Exprese proteinů v bakteriálních buňkách, selekční markery, značky (tag) a způsoby indukce
6. Exprese proteinů v kvasinkách (*Saccharomyces cerevisiae*, *Pichia pastoris*), typy selekčních markerů
7. Metody studia interakce protein-protein a protein-DNA
8. Metody PCR a její využití
9. Kvantifikace genové exprese pomocí real-time PCR
10. Mutagenese, principy místně cílené mutagenese, CRISPR: princip, metodický postup a využití
11. cDNA a genomové knihovny, příprava, využití
12. Genové čipy, princip a využití
13. Základní principy masivního paralelního sekvenování
14. Metody založené na masivním paralelním sekvenování: RNA-seq, metagenomika, stanovování sekvenačních polymorfismů
15. Způsoby přenosu DNA do živočišných buněk
16. Využití transgenních živočichů; myši model: knock-out, imbrední linie
17. Buněčné klonování, terapeutické klonování, kmenové buňky
18. Genové terapie, principy a využití
19. Metody transformace rostlinné buňky, příprava transgenních rostlin
20. GMO rostliny, příklady využití a legislativa
21. Genetické markery; definice, rozdělení a metody jejich určování; markery asistovaná selekce
22. Jednonukleotidový polymorfismus (SNP); funkce, způsoby získávání de novo a genotypování známých SNP u hospodářských plodin
23. Tvorba genetických map; příprava mapovací populace/typy mapovacích populací, aplikace DNA markerů, analýza vazby mezi markery a mapování genů; definice QTL (quantitative trait locus)
24. Poziční klonování genů; příprava BAC knihoven, hromadná segregací analýza, procházení po chromozómu a integrace lokální genetické mapy s vysokým rozlišením s lokální fyzickou mapou
25. Principy cílené editace genomu; nukleasy zinkových prstů, typu TALEN a CRISPR/Cas9 systém
26. Parazitismus, patogenismus a infekční cyklus. Fakultativní a obligátní nekrotrofie, hemibiotrofie, fakultativní a obligátní biotrofie včetně vybraných zástupců. Infekční cyklus u rostlinných fytopatogenů. Modelové fytopatogeny z rodů *Blumeria*, *Puccinia* a *Phytophthora*.
27. Reakce rostliny na infekční agens a vzájemný vztah hostitele a patogenu. Základní kompatibilita a inkompatibilita, rezistence a náchylnost, imunita, vertikální a horizontální rezistence.
28. Molekulární a biochemická podstata vztahu gen proti genu. Efektor, elicitor, Avr faktor, toxin. Apoplastické a cytoplazmatické efekторы Oomycetes: struktura, mechanismus transportu a funkce. Základní třídy rostlinných R proteinů: struktura, lokalizace a funkce.
29. Genomika efektorů (efektoromika) Oomycetes a její využití. Selekční kritéria pro bioinformatickou predikci efektorů. Nástroje pro transientní in planta expresi efektorů: Agroinfekce a agroinfiltrace. Příklady využití efektoromiky.
30. Rostlinný imunitní systém: PAMPs, PRRs, PTI, ETS, R proteiny, ETI a Zig-zag model. Struktura a typy PRRs včetně rozpoznávaných PAMPs. Tvorba aktivních PAMP-PRR komplexů, příklad Flg22-FLS2. Funkce TTSS efektorů *Pseudomonas syringae* v rostlinné imunitě.
31. Rozpoznání efektorů pomocí NB-LRR proteinů a evoluce R genů kódujících proteiny typu NB-LRR. Přímé a nepřímé rozpoznání efektorů pomocí NB-LRR proteinů, modely. NB-LRR páry a rozpoznání Avr/patogenů. Typ I a typ II R geny. Mechanizmy evoluce R genů. Evoluce R genů ve vztahu k mechanismům rozpoznání efektorů.

32. Mitogenem-aktivované protein kinázy (MAPK) a jejich funkce v PTI a ETI. Rostlinné MAPK moduly aktivované PAMPs a efektory. Role patogeny indukovaných MAPK v obranných odpovědích. MAPK a biosyntéza hormonů, vztah MAPK a salicylové kyseliny, aktivace obranných genů, biosyntéza camalexinu, regulace produkce kyslíkových radikálů a regulace hypersenzitivní rezistence.
33. Role průduchů v odolnosti vůči bakteriálním patogenům a proteiny spojené s patogenezí (PR proteiny). Reakce průduchů na bakteriální infekci. Role flagellinu a MAPK v regulaci uzavírání průduchů. Mechanizmy elicitace PR proteinů. Klasifikace PR proteinů a jejich funkce.

## **Okruhy KBI/SZZA7 Molekulární buněčná biologie - magisterské studium**

1. Strukturní a funkční kompartmentalizace prokaryotické a eukaryotické buňky
2. Buněčná stěna – molekulární stavba a funkce
3. Plasmatická membrána - molekulární stavba a funkce
4. Sekretorický vezikulární transport, exocytóza, endoplasmatické retikulum, Golgi, post-Golgi kompartmenty
5. Endocytotický vezikulární transport, endocytóza, fagocytóza, pinocytóza, endozómy, vakuola, lyzozóm
6. Aktinový cytoskeleton - struktura a funkce, polarita, dynamika, ABPs
7. Mikrotubulární cytoskeleton - struktura a funkce, polarita, modifikace, dynamika, MAPs
8. Signalizace a cytoskeleton, interakce malých GTPáz a cytoskeletonu, interakce MAPKs a cytoskeletonu
9. Motorové proteiny a pohyb organel
10. Buněčné jádro a jadérko - struktura a funkce, transport mezi jádrem a cytoplasmou
11. Plastidy - struktura a funkce, transport proteinů
12. Mitochondrie, peroxizómy, glyoxizómy, lipozómy - struktura a funkce
13. Molekulární základy signalizace, receptor, ligand, přenašeče signálu, protein kinázy, mitogen-aktivované protein kinázy
14. Fáze, kontrolní body a regulace buněčného cyklu, cykliny a CDPK
15. Mezibuněčné interakce, plasmodesmy – struktura a funkce
16. Symbióza a mykorhiza – molekulární a buněčné základy
17. Vizualizace buněk – světelná a fluorescenční mikroskopie
18. Elektronová mikroskopie, transmisní a rastrovací EM
19. Vizualizace organel, kompartmentů a komponent ve fixovaných buňkách, fixace, barviva, imunolokalizace
20. Vizualizace organel, kompartmentů a komponent v živých buňkách, vitální barviva
21. Základní struktura fluorescenčních proteinů, spektrální varianty GFP a vlastnosti fluorescenčních proteinů, které jsou důležité k jejich využití jako reportérových genů/proteinů

22. Využití fluorescenčních proteinů ke studiu lokalizace, dynamiky a interakce proteinů při studiu živých buněk

## **Okruhy KBI/SZZA8 Molekulární biologie a genetika - navazující studium**

1. Definice genomu, genu, typy genů
2. DNA, RNA a centrální dogma molekulární biologie
3. Struktura DNA u prokaryot a eukaryot
4. Struktura eukaryotních chromozomů, úroveň uložení chromatinu
5. Histony, jejich funkce v nukleosomech, při replikaci a transkripci
6. Heterochromatin, euchromatin, centromer a telomery
7. Princip replikace DNA, kontrolní mechanismy
8. Replikační vidlice u prokaryot a eukaryot, DNA polymerasa
9. Pomocné enzymy replikace, primasa, helikasa, topoisomerasa
10. Chyby a poškození DNA, postreplikační opravy
11. Replikace celkové DNA u prokaryot a eukaryot
12. Obecná a místně specifická rekombinace DNA
13. Transkripce genu, RNA polymerasa
14. Tvorba mRNA u prokaryot a eukaryot
15. Tvorba rRNA
16. Translace a genetický kód
17. Syntéza peptidů na ribosomu
18. Skládání proteinů, monitorování kvality proteinů, degradace
19. Význam kontroly exprese genů, kontrola genové exprese u eukaryot
20. Vazba proteinů na DNA, typy regulačních proteinů
21. Metody studia genové exprese a její regulace, studium funkce genu.
22. Regulace genové exprese u prokaryot, základní principy
23. Regulace exprese genů u eukaryot
24. Methylace DNA a její význam pro expresi genů
25. Postranskripční mechanismy regulace genové exprese
26. Buněčná signalizace a typy receptorů
27. Signalizace prostřednictvím G proteinů
28. Signalizace prostřednictvím tyrosinkinas
29. Signalizace prostřednictvím nukleárních receptorů
30. Specifické signální dráhy u rostlin
31. Fáze buněčného cyklu
32. Kontrolní body a regulace buněčného cyklu
33. Programovaná buněčná smrt
34. Klonování genu, příprava knihoven
35. Určování sekvencí genomů organismů, sekvencování DNA
36. Metoda PCR a její využití

## Okruhy KBI/SZZA9 Biochemické metody v biotechnologiích - magisterské studium

---

### 1) Základní operace s biologickým materiálem.

Homogenizace tkání a extrakce buněčného obsahu. Precipitanty. Dialýza a ultrafiltrace. Preparativní a analytická centrifugace, centrifugace v hustotním gradientu. Izolace buněčných organel, markerové enzymy.

### 2) Chromatografické metody.

Kapalinová a plynová chromatografie, princip a použití. Adsorpční, iontoměničová, gelová a afinitní chromatografie proteinů. HPLC a perfúzní chromatografie. Chromatofokusace. Dvojměrná chromatografie.

### 3) Elektromigrační metody.

Gelová elektroforéza, provedení kontinuální a diskontinuální, jednorozměrná a dvojměrná elektroforéza. Isoelektrická fokusace. Kapilární elektroforéza. Blotting – dělení podle typu vzorku a provedení. Nativní elektroforéza proteinových komplexů. Kapilární elektroforéza.

### 4) Metody studia proteinů.

Peptidová vazba. Stanovení koncentrace proteinů ve vzorku. Analýza aminokyselinového složení a sekvence proteinů. Studium posttranslačních modifikací. Chemické modifikace proteinů, biotinylace a vytvoření příčné vazby. Chemická syntéza peptidů (Bruce Merrifield).

### 5) Analýza nukleových kyselin.

Struktura nukleových kyselin. Mapování DNA restrikčními endonukleasami. Elektroforéza a blotting nukleových kyselin. Čipové technologie analýzy nukleových kyselin. Sekvencování DNA (Sangerova metoda, pyrosekvencování, metody nové generace). Polymerasová řetězová reakce (PCR) a její aplikace. Chemická syntéza oligonukleotidů.

### 6) Hmotnostní spektrometrie biomolekul.

Ionizační techniky MALDI a ESI. Typy hmotnostních analyzátorů. Peptidové hmotnostní mapování (fingerprinting), tandemová hmotnostní spektrometrie. Fragmentace peptidů, *de novo* sekvencování. Charakterizace posttranslačních modifikací. Pojmy proteomika, lipidomika, metabolomika.

### 7) Proteiny jako biomarkery v medicíně.

Klinická proteomika. Metoda DIGE. Hmotnostní spektrometrie patogenních mikroorganismů. Zobrazovací hmotnostní spektrometrie. Kvantifikace proteinů pomocí hmotnostní spektrometrie.

### 8) Imunochemické metody.

Strukturní rysy imunoglobulinů. Polyklonální a monoklonální protilátky a jejich příprava. Imunodifúze a imuno elektroforéza. Immunoblotting a mikroskopické imunotechniky.

### 9) Spektroskopické metody.

Absorpční spektroskopie. Fluorescenční spektroskopie. Infračervená a Ramanova spektroskopie. Chiroptické metody. Principy a aplikace spektroskopických metod.



### **10) Strukturní analýza proteinů**

Vyšší prostorové struktury proteinů. Metodika krystalizace proteinů. Rentgenová strukturní analýza. Použití hmotnostní spektrometrie a elektronové mikroskopie pro analýzu proteinové struktury.

### **11) Elektrochemické metody v biochemii.**

Polarografie a voltametrie a jejich použití v biochemii. Biosenzory, příklady využití potenciometrických a amperometrických biosenzorů. Imobilizace biomolekul při konstrukci biosenzorů.

### **12) Metody pro biochemické studium interakcí biomolekul.**

Mikrokalorimetrie. Rovnovážná dialýza. Resonance povrchových plasmonů. Metoda FRET. Metody určování velikosti a tvaru biomakromolekul pomocí rozptylu světla. Interakce biomakromolekul s ligandy a její analýza.

### **13) Enzymová analýza.**

Enzymy a enzymová katalýza. Kinetika reakce se substrátem, inhibice enzymů. Využití enzymů pro značení biomolekul a jejich detekci. Chromogenní a fluorogenní enzymové substráty. Spřažené enzymové reakce. ELISA a její varianty. Stanovení koncentrace metabolitů, stanovení enzymové aktivity. Warburgův optický test.