

**Požiadavky na dizertačnú skúšku z MOLEKULÁRNEJ BIOLÓGIE  
MIKROORGANIZMOV pre študentov doktorandského štúdia v študijnom odbore  
MIKROBIOLÓGIA A VIROLÓGIA**

---

**1. Štruktúra, vlastnosti a funkcie nukleových kyselín.** Štruktúra DNA a RNA. Primárna a vyššie štruktúry. Formy DNA štruktúry (A,B,C,Z). Stabilizujúce faktory v štruktúre NK. Superšpiralizácia DNA. DNA topoizomerázy, DNA gyrázy. Molekulárna štruktúra chromozómov. Autonómne replikujúce sa sekvencie (ARS), centroméry a teloméry. Štruktúra chromatinu. Charakteristika nukleotidových sekvencií eukaryotickej chromozómovej DNA. Repetitívne sekvencie. Opakujúce sa skupiny génov. Palindromy. Medzerníky. Intróny a exóny. Mimojadrové nukleové kyseliny. Organizácia mitochondriálneho genómu. Chloroplastová DNA. Plazmidy. Transponovateľné elementy.

**2. Syntéza bielkovín. genetický kód.** Vlastnosti a objavenie (Nirenbergové experimenty). Univerzálnosť a degradácia kódu. Kolinearita medzi štruktúrou génu a príslušnou bielkovinou. Centrálna dogma molekulárnej biológie. Úlohy RNA v syntéze bielkovín. Molekulárna štruktúra ribozómov a tRNA. Jednotlivé stupne v syntéze bielkovín – iniciácia, iniciačné faktory a iniciačný komplex. Elongácia a elongačné faktory. Terminácia a terminačné faktory. Posttranslačné modifikácie.

**3. Bunkový cyklus prokaryotických a eukaryotických buniek.** Základné charakteristiky. Regulácia bunkového cyklu u eukaryontov. Mitotické delenie a meiotické delenie. Genetická analýza bunkového cyklu.

**4. Prenos genetickej informácie.** Transformácia bakteriálnych, kvasinkových a živočíšnych buniek. Využitie metabolických dráh syntézy nukleotidov pri transformácii cicavčích buniek. Živočíšne vírusy ako vektory, SW 40 - základné charakteristiky a využitie.

**5. Bakteriofág lambda.** Životný cyklus a hlavné gény regulujúce vývoj fága. Alternatívne fyziologické stavy. Faktory kontrolujúce funkciu lambda DNA.

**6. Replikácia DNA vírusov.** Klasická replikácia, replikácia vytláčaním reťazca, replikácia pomocou rotujúceho kruhu – jednovláknová a dvojitá vláknová DNA. Uviest' príklady vírusov.

**7. Retrovírusy a ich životný cyklus.** Mechanizmus reverznej transkripcie. Genetické elementy provírusovej DNA a ich produktov. LTR – funkcia a organizácia. Ľudské nádorové vírusy – HTLV, HIV, iné. Protoonkogény, onkogény a ich produkty. Klasifikácia onkogénov.

**8. Antigénny drift a antigénny shift.** Molekulárny mechanizmus, uviesť príklady.

**9. Replikácia vírusov s jednovláknovou RNA s pozitívnou polaritou.** Štruktúra genómu a replikácia Togavírusov, Flavivírusov a Koronavírusov.

**10. Replikácia vírusov s jednovláknovou RNA s negatívnou polaritou.** Štruktúra genómu a replikácia Ortomyxovírusov, Paramyxovírusov a Rabdovírusov.

**11. Buniavírusy a Arena vírusy.** Štruktúra a replikácia vírusov.

**12. Rekombinantné DNA.** Restrikčno-modifikačné systémy. Spôsoby selekcie a produkcie špecifických DNA. Genomické a cDNA klony. Molekulárne hybridizácie. "Fingerprint" techniky. Restrikčná analýza. Určenie štartu mRNA. Metódy štúdia interakcie DNA-bielkovina. Identifikácia, izolácia a molekulárna štruktúra DNA-viažucich bielkovín. PCR a jej využitie. Cielená in vitro mutagenéza. Využitie homológnej rekombinácie u kvasiniek k príprave nulových mutantov a izolácia mutantných alel.

**13. RNA syntéza a regulácia transkripcie u prokaryontov.** Iniciácia, elongácia a terminácia transkripcie. Bakteriálna RNA-polymeráza - štruktúra a vlastnosti. Sigma faktory. Organizácia bakteriálneho promotóra a terminátora. Regulačné bielkoviny - represory a aktivátory. Laktózový operón - história, organizácia a funkcia.

**14. Modely regulácie génovej expresie pri prokaryotoch.** Lac, ara, trp, recA – operóny, negatívna a pozitívna kontrola. Enzymová represia, enzymová indukcia, katabolická represia.

**15. RNA syntéza pri eukaryotických bunkách.** Odlišnosti od bakteriálnej transkripcie. Vzťahy medzi jadrovou a cytoplazmatickou RNA. Značené prekursor RNA, typy RNA a ich lokalizácia. Prekursorové RNA. RNA-polymerázy - štruktúra, funkcia a molekulárnobiologické vlastnosti.

**16. Transkripčné jednotky a spôsoby ich mapovania.** Syntéza a "procesing" pre-rRNA. Biogenéza ribozomálnych podjednotiek. Syntéza a "procesing" 5S rRNA a tRNA. Transkripčné faktory a preiniciačný komplex pre RNA-polymerázu III.

**17. Syntéza a "procesing" mRNA.** hnRNA a mRNA – vzťahy s posttranskripčné modifikácie. RNA "splicing". Produkcia rôznych mRNA z primárneho transkriptu u adenovírusu. Transkripcia RNA-polymerázou II - tvorba preiniciačných komplexov. Promótorové sekvencie, "enhacery", UAS a metódy ich mapovania. Terminácia transkripcie. Premena hnRNA na mRNA - polyadenylácia - adícia, metylácia a "splicing". Konzervatívne sekvencie na miestach "exon-intron". Účasť snRNP v "splicingu" hnRNA. Spliceosomy. "Splicing" mRNA.

**18. Replikácia DNA.** Iniciácia, elongácia, terminácia replikácie. Molekulárny mechanizmus replikácie dvojláčkovej lineárnej a kruhovej DNA a jednoláčkovej kruhovej DNA. Enzymy a proteíny zúčastňujúce sa replikácie DNA. Prokaryotické a eukaryotické DNA-polymerázy. Replikačné počiatky - štruktúra a vlastnosti. Topoizomerázy - funkcia. Asociácia DNA s bielkovinami. Funkcie histónov.

**19. Molekulárny mechanizmus mutácií a oprava DNA.** Génové, chromozómové, genómové, nonsens, missens, supresorové a auxotrofné mutácie. Podstata a vznik bodových mutácií - tranzícia, transverzia, delícia, inzercia. Pôsobenie chemických a fyzikálnych mutagénov. Vznik chýb u DNA a druhy poškodenia DNA. Tvorba tymidínových dimérov. Oprava genetického poškodenia. Reparačné mechanizmy - fotoreaktivácia, excízna oprava, postreplikačná rekombinačná oprava. Opravná funkcia DNA polymerázy. Oprava DNA u eukaryotických buniek. Techniky získavania a izolácie mutantov. Genetická komplementácia, jemná štruktúra génu.

**20. Rekombinácia DNA.** Molekulárny mechanizmus rekombinácie - crosing-over, génová konverzia, heteroduplexy. Rekombinačné procesy u baktérií - transformácia, konjugácia a transdukcia. Transdukcia špecifická, nešpecifická, abortívna.

**21. Molekularne mechanizmy rezistencie pri mikroorganizmoch.** Gény rezistencie, gény virulencie, prenos genetickej informácie, horizontálny a vertikálny transfer, molekulárne metódy detekcie) Membránový potenciál - význam a meranie. Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> -ATPázy - štruktúra a vlastnosti. MFS a ABC transportné systémy.

**23. Mitochondriálny genóm a jeho mutácie.** Rekombinácia mitochondriálnych génov. štruktúra, replikácia, transkripcia, posttranskripčné úpravy a translácia u mitochondrií.

**24. Využitie molekulárnych mechanizmov pri sekvenačnej analýze génov, genómu a transkriptómu.** Princípy transpozície, ligácie nukleových kyselín, interkalácia fluorescenčných farbičiek, selekcia DNA na základe veľkosti). Typy sekvenačných technológií a princípy.

**25. Molekulárne metódy v štúdiu mikroorganizmov a vírusov so zameraním na PCR metódu a jej využitie.** Princíp, podmienky, design primerov, variácie techniky: asymetrická PCR, inverzná PCR, PCR s reverznou transkriptázou, ligázová reťazová reakcia, real-time PCR, multiplex PCR, nested PCR, sekvenačná PCR.

**26. Imunitný systém.** Molekulárne základy antigénovej špecificity a imunogénnosti. Chemická povaha antigénov. Triedy a podtriedy imunoglobulínov, typy, podtypy, skupiny. Štruktúra Ig. Rozpoznávacie a výkonné funkcie Ig. Chemické, fyzikálno-chemické a biologické vlastnosti Ig. Izotopy, alotypy, idiotypy.

Doporučená literatúra:

1. Darnell, J., Lodish, H., Baltimore, D.: Molecular Cell Biology, Scientific American Books, Distributed by W.H. Freeman and Company, New York, 1990.
2. Šipický, M., Šubík, J.: Genetika kvasiniek, Veda-SAV, Bratislava, 1992.
3. Feldmann H. (editor): Yeast: Molecular and Cell Biology, Wiley, 2nd Edition, 2012
4. Fields Virology. 6<sup>th</sup> edition, 2013