

# Otázky státní závěrečné zkoušky N-BIC BMCH

## 1 Pokročilá biochemie a její metody

1. Nekovalentní interakce stabilizující biomakromolekuly. Pauliho repulse, disperzní síly, Lennard-Jonesův potenciál, van der Waalsovy interakce, sterické repulse, interakce nábojů, permanentních a indukovaných elektrických dipólů v rámci biomakromolekul a mezi biomakromolekulami a jejich ovlivnění solvatací vodou, orientace solventu (vody) a entropie, vodíková vazba, hydrofobní efekt (role entropie), změny entalpie a entropie při vzniku iontového můstku, vodíkové vazby, disulfidové vazby. **C6215.4, F8510**
2. Struktura nukleových kyselin. Monomerní jednotky, konformace a její popis, cukrfosfátová páteř, pentosový kruh, poloha bazí, primární struktura, sekundární struktura (dvojšroubovicové struktury, párování bazí), terciární struktura a principy její stavby (interakce bazí, intramolekulární interakce obecně), vyšší struktury, interakce s proteiny. **C7925**
3. Struktura proteinů. Monomerní jednotky, konformace a její popis pomocí torzních úhlů, primární struktura, sekundární struktura (konformace páteře, Ramachandranův diagram, šroubovicové struktury, skládaný list), terciární struktura a principy její stavby (role postranních řetězců, supersekundární motivy, fold, doména, intramolekulární interakce), kvartérní struktura a intermolekulární interakce. **C7920**
4. Příprava rekombinantních proteinů. Definice, historie. Expresní systémy, vektory, značky, posttranslační modifikace, glykosylace. Amplifikace genu, klonování, selekce buněk s klonovaným genem, indukce exprese. Místně cílená mutageneze. **C6215.6, C7920, C8980**
5. Extrakce, purifikace a kvantifikace proteinů. Lýze buněk, inhibice proteolýzy a oxidace, solubilizace inkluzních tělísek. Nechromatografické metody - frakcionace, ultrafiltrace, diferenciální centrifugace, preparativní elektroforéza a izoelektrická fokusace. Chromatografické metody - gelová permeační, iontově výměnná, chromatofokusace, hydrofobní, afinitní, kovalentní. Metody stanovení celkového proteinu. Kritéria čistoty proteinu. **C6215.7**
6. Intermolekulární interakce biologicky důležitých molekul a jejich charakterizace. Vazebné rovnováhy, stechiometrie, disociační konstanty a jejich měření (isotermální titrační kalorimetrie, anisotropie fluorescence, případně další metody). **C6215.8, S2004**

## 2 Molekulové modelování a bioinformatika

### 2.1 Bioinformatika

11. Úvod do genomiky. Definice a struktura genů, určení sekvence nukleových kyselin (Sanger, NGS). **C6215.1**
12. Úvod do proteomiky. Definice pojmů protein, proteoforma, proteom, proteotyp. Identifikace proteinu a určení sekvence aminokyselin pomocí hmotnostní spektrometrie. **C6215.2**
13. Databáze biologických dat. Molekulárně-biologická data. Rozdělení biologických databází (primární, sekundární, strukturní, genomové). Složené databáze. Instituce pro správu bioinformatických dat. Formát a anotace záznamů v databázích. Vyhledávání v databázích (textové vyhledávání, sekvenční příložením). **C2135.1**
14. Sekvenční příložením. Párové a mnohočetné příložením. Základní algoritmy, matice. Příložením nukleotidové a aminokyselinové sekvence. Význam a použití příložením pro analýzu dat. **C2135.2**
15. Predikce ORF. Čtecí rámce, překlad nukleotidové sekvence do proteinové, genetický kód. Nástroje pro překlad nukleotidových sekvencí. Predikce genů. Predikce genů u prokaryot. Predikce genů u eukaryot. Chyby při predikci. Programy a nástroje pro identifikaci genů. **C2135.3**
16. Design primerů. Základní charakteristiky primerů a jejich význam. Softwarové nástroje pro design primerů. Použití primerů. **C2135.4**
17. Analýza specifických nukleotidových sekvencí, palindromy. Palindromy a restriční štěpením. Restriční analýza in silico. Molekulárně biologické vektory. Tvorba rekombinantních molekul a klonování. **C2135.5**
18. Predikce vlastností a funkce proteinů. Základní fyzikálně-chemická charakteristika proteinu (izoelektrický bod, extinkční koeficient, molekulová hmotnost). Predikce lokalizace proteinu u prokaryot (Gram pozitivní, Gram negativní bakterie) a eukaryot. **C2135.6**
19. Predikce sekundární struktury proteinů (algoritmy a nástroje). Vyhledávání funkčních a strukturních motivů v sekvencích, predikce funkce proteinů. Databáze strukturních a funkčních motivů. **C2135.6**
20. Predikce terciární struktury proteinů. Homologní modelování. Threading. Predikce ab initio. Srovnání jednotlivých metod, validace modelů. Databáze struktur, vizualizace struktur. **C2135.6**

## 2.2 Molekulové modelování

21. Srovnání experimentálního přístupu a molekulového modelování při studiu struktury, termodynamiky a kinetiky molekulárních systémů. Rozlišení a přesnost výpočetních metod. *In silico* modely a modely založené na experimentálních metodách s atomovým (X-ray, NMR) a molekulárním (FRET, STM, AFM, CryoEM) rozlišením a jejich validace. **C7790**
22. Kvantově chemické metody: semiempirické, ab initio a metody funkcionálu hustoty. Kvantová podstata mikrosvěta, vlnová funkce, Schrödingerova rovnice. Výpočet interakční energie, Bornova-Oppenheimerova aproximace. **C7790**, C9920, C9930
23. Klasické modely. Modely vazebných a nevazebných interakcí (Pauliho repulze, elektrostatická interakce, indukce, disperze). Atomové náboje a jejich výpočet. Přehled silových polí. Víceúrovňové modelování (QM/MM, hrubozrné modely). **C7790**, FB810, C8855
24. Vliv rozpouštědla na molekulární interakce. Implicitní a explicitní modely rozpouštědel. Poisson-Boltzmanova teorie. Explicitní modely vody (např. SPC/E, TIP3P). Periodické okrajové podmínky. Metody ořezu interakcí a Ewaldova sumace. **C7790**
25. Kartézské a interní souřadnice. Hyperplochy potenciální energie. Stacionární body, jejich charakterizace a význam. Hledání lokálních minim a tranzitních stavů. Přehled optimalizačních algoritmů (simplexová metoda, metoda největšího spádu, Newtonova - Raphsova metoda). **C7790**
26. Molekulová dynamika a její srovnání s Monte Carlo simulacemi. Ergodická hypotéza. Pohybové rovnice. Přehled numerických integračních metod. Faktory ovlivňující velikost integračního kroku. Simulace za konstantní teploty a tlaku. **C7790**, FB810
27. Analýza simulací. Výpočet vlastností systému z molekulárně dynamických simulací (např. RDF, RMSD). Korelační a autokorelační funkce. Konvergence, fluktuace, a odhad chyb. **C7790**
28. Molekulární docking. Skórovací metody (zjednodušený popis interakce, vliv rozpouštědla, entropie). Hledání globálních minim pomocí stochastických algoritmů. Virtuální screening a ranking. **C7790**, C8855
29. Přehled metod pro výpočet volných energií. Vzorkovací problém a jeho řešení. Vztah potenciální a volné energie k termodynamickým veličinám. Alchemické přeměny, metody koncových stavů (např. MM/PBSA). Metody pro výpočet profilů volných energií (např. Umbrella sampling, Metadynamika). **C7790**
30. Tranzitní stavy na plochách potenciální a volné energie. Pravá reakční koordináta. Zjednodušený popis pomocí kolektivní proměnných. Hystereze reakčních cest. Charakterizace reakčních mechanismů enzymatických reakcí a konformačních přeměn. **C7790**

## 3 Experimentální metody strukturní biologie

### 3.1 Spektroskopické metody

11. Informace o trojrozměrné struktuře nepocházející z interakce se zářením. Chemické síťování (cross-linking) s detekcí hmotnostní spektrometrií, mikroskopie atomárních sil (AFM). **C6215.2,5**
12. Využití optické spektroskopie (v ultrafialové, viditelné, infračervené oblasti) ve strukturní biologii, absorpce, fluorescence. Určování sekundární struktury biomakromolekul, použití cirkulárního dichroismu. **C6215.5**
13. Základní principy NMR. Magnetický dipólový moment jader, jeho precese v homogenním externím magnetickém poli, distribuce orientací magnetických momentů a magnetizace v termodynamické rovnováze, koncept koherence, základní NMR experiment, NMR spektrometr, využití radiových vln, detekce signálu. **C6770.1, C5320**
14. Lokální magnetická pole v molekule (vliv elektronů a ostatních jader), jejich vliv na precesi magnetických momentů jader a vývoj koherence, chemický posun, modulace nosné frekvence, Fourierova transformace, frekvenční spektrum. **C6770.2, C5320**
15. Heteronukleární NMR spektroskopie. Spinová echa, INEPT, HSQC, princip vícerozměrné spektroskopie. **C6770.3, C5320**
16. 3D NMR experimenty pro sekvenční přiřazení frekvencí proteinů. HNCA, HN(CO)CA, HNCACB, CBCA(CO)NH, princip sekvenčního přiřazení. **C6770.5**
17. Principy homonukleární 2D NMR spektroskopie, NOESY experiment jako příklad. Isotropní směšování, TOCSY. Isotopově editované homonukleární experimenty, přiřazení postranních řetězců pomocí TOCSY-HSQC. **C6770.6, C5320**
18. Získávání strukturních parametrů z NMR dat: měření vzdáleností vodíkových atomů, určování dihedrálních úhlů, zbytkové dipólové interakce v částečně orientovaných mediích, rekonstrukce prostorové struktury makromolekul, vázaná molekulová dynamika pro výpočet struktury. **C6770.7**
19. NMR spektroskopie nukleových kyselin. Korelace v bazích a v cukrfosfátové páteři, sekvenční přiřazení, metody založené na NOE a heteronukleární korelaci. **C6770.8-9.**
20. Molekulové pohyby a NMR relaxace, časové škály, interakce způsobující relaxaci, korelační funkce, funkce spektrální hustoty, vztah funkce spektrální hustoty a relaxační rychlosti, vliv pomalé výměny na relaxační rychlosti a na tvar čáry. **C6770.10-12, C5320**

## 3.2 Difrakční metody

21. Rozptyl elektromagnetického záření na makromolekulách, anizotropie, hydrodynamický poloměr. Dynamický rozptyl světla (DLS, dynamic light scattering), monodisperzita, polydisperzita. Rozptyl rentgenového záření (SAXS). **C6215.5**
22. Krystalizace proteinů, termodynamický (entalpie, entropie) a kinetický pohled (nukleace a růst krystalu) na krystalizaci, popis fázového diagramu krystalizace. Symetrie molekul a krystalů, operace symetrie, bodové grupy. Popis základních krystalografických buněk (translace, centrosymetrie). **C7270.1**
23. Teorie difrakce, rozptyl rentgenového záření (elektrony, atomy, elementární buňkou, krystalem), difrakční podmínka. **C7270.2**
24. Fourierova transformace, rozptylový faktor, strukturní faktor, symetrie difrakčních dat, zpracování difrakčních snímků, indexace difrakčních skvrn, integrace signálu. **C7270.2**
25. Fázový problém v rentgenové krystalografii. Isomorfní nahrazení (Isomorphous Replacement), využití anomálního rozptylu (SAD, MAD) a molekulové přemístění (Molecular Replacement), rotační a translační funkce. **C7270.3-5**
26. Struktura elektronového mikroskopu a teorie elektronové mikroskopie. Interakce elektronu s hmotou, slabý fázový objekt – zdroje kontrastu v elektronové mikroskopii, filtrování obrazu. Contrast Transfer Function. **C7270.6-8**
27. Fourierova transformace a její základní vlastnosti, konvoluce, korelace, rozptylová funkce (point spread function) při zobrazování v transmisním elektronovém mikroskopu. **C7270.6-8,11**
28. Analýza snímků makromolekul z transmisního elektronového mikroskopu - klasifikace 2D obrazů. Principal component analysis. 3D klasifikace. **C7270.9-10**
29. Výpočet struktur makromolekul z dat získaných pomocí transmisní elektronové mikroskopie. Metody 3D rekonstrukce: single particle reconstruction a tomografie. **C7270.11**
30. Tvorba a zpřesňování modelů makromolekul postavených na základě krystalových map elektronové hustoty, nebo cryo-EM rekonstrukcí, (refinement), R-faktory, Ramachandranův diagram, validace a odhalení chyb, určení chyby souřadnic finálního modelu. **C7270.5**

## Vysvětlivka

Čísla za otázkou odkazují na kód příslušného předmětu, případně doplněný bodem osnovy. Kódy povinných předmětů jsou vtištěny tučně.