

Universidad de Puerto Rico  
Recinto Universitario de Mayagüez  
Departamento de Biología

Primer examen de Genética de Bacterias (Biol 5758)

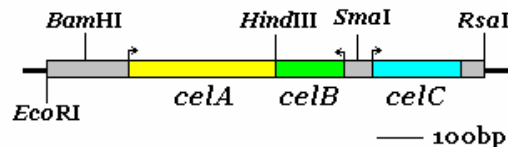
Clave de identificación:

Fecha:

El siguiente examen será entregado el día 29 de septiembre de 2004, no más tarde de las 6:00 pm en C-142. El examen deberá estar “ponchado” por el reloj departamental. Ningún examen será aceptado por correo electrónico o luego de la fecha y hora indicada.

I. Conteste las siguientes preguntas, sea breve pero específico, incluya diagramas y experimentos si necesario o requerido. Recuerde que se sugiere discusión para análisis del mismo, pero la redacción será de manera individual.

A. Se aisló un fragmento de DNA de cerca de 1,000pb del cual se cree contiene tres ORF requeridos para la degradación de un contaminante llamado Celisol. La organización de los genes propuesto para el fragmento es presentado a continuación:



Fusiones transcripcionales con *lacZ* fueron realizados a distintos segmentos del fragmento, realizando digestiones con distintas enzimas de restricción, luego los distintos fragmentos se clonaron en plásmidos conteniendo el gen de *lacZ*. No se detectaron problemas con marcos de lectura en las fusiones. Luego cada plásmido fue transformado en bacterias cuyos genes *cel* fueron delecionados y se determinó el efecto de la presencia y ausencia de Celisol transcripcionalmente. Los resultados son mostrados a continuación:

(Los porcentajes indican actividad de beta-galactosidasa).

	Gen	Fusión	Fragmento clonado	Actividad LacZ Celisol	
				Presencia	Ausencia
1.	----	transcrip.	<i>EcoRI</i> - <i>BamHI</i>	0%	0%
2.	<i>celA</i>	transcrip.	<i>EcoRI</i> - <i>HindIII</i>	0%	0%
3.	<i>celA</i>	transcrip.	<i>BamHI</i> - <i>HindIII</i>	0%	0%
4.	<i>celB</i>	transcrip.	<i>HindIII</i> - <i>SmaI</i>	0%	0%
5.	<i>celC</i>	transcrip.	<i>SmaI</i> - <i>RsaI</i>	0%	0%
6.	<i>celC</i>	transcrip.	<i>HindIII</i> - <i>RsaI</i>	100%	0%
7.	<i>celB</i>	transcrip.	<i>HindIII</i> - <i>RsaI</i>	100%	0%
8.	2 (transcript.) y 6 (solo genes)			100%	0%
9.	3 (transcript.) y 7 (solo genes)			50%	0%

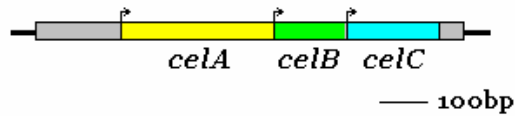
a. ¿Cómo describe genéticamente lo ocurrido en los casos?:

- a. 2 y 3
- b. 4 y 5
- c. 6 y 7
- d. 8 y 9

b. Proponga la función de cada gen y prepare un modelo de interacción entre los mismos.

c. Cree que la transcripción de los genes es constitutiva, inducida?, explique.

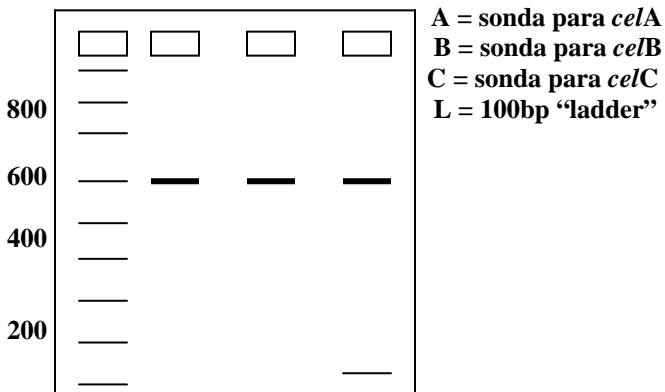
d. Si se inactivara *celB* por inserción de un transposón, crearía éste polaridad hacia *celC*, *celA*?, ¿Por qué?.



II. ¿En otra bacteria aislada del Bosque frente al nuevo edificio de Biología se aisló un fragmento de cerca de 800pb y el arreglo de los genes *cel* es como se muestra en la figura arriba.

Para determinar si los genes se co-transcribían se prepararon sondas genéticas radioactivas para porciones de los genes *cel A*, *cel B* y *cel C*

Se extrajo RNA de células WT y se aplicaron las sondas de manera individual, el gel es mostrado a continuación:



a. Se co-transcriben los genes *cel* en la nueva bacteria?, ¿porqué?

b. ¿Qué ocurre en el carrilC?, proponga una hipótesis al respecto y una manera experimental de probarlo.

c. Se cree que los genes *celB* y *celC* son esenciales. ¿Cómo lo probaría individualmente?

III. ¿Se afectarán los genes *celB* y *celC* por polaridad con un cambio de un nucleótido por otro en *celA*?, por una inserción de un transposón?

IV. ¿Se afectarán los genes *celA* y *celB* por polaridad con un cambio de un nucleótido por otro en *celC*?, por una inserción de un transposón?