

Genética General. Grupos A y B. Cuarto parcial. 5 de Mayo de 2017.

Apellidos	Nombre	Firma:
-----------	--------	--------

1/4- Se estudia la divergencia evolutiva entre el chimpancé (*Pan troglodytes*) y el hombre en distintas regiones genómicas. Las dos especies se separaron hace unos **6 millones de años**. Entre otras observaciones, se encontraron **4 diferencias** (cambios de bases observados) entre las secuencias de las dos especies para una región intergénica (no-génica) nuclear de 200 pares de bases (o sitios) aparentemente sin función. Por otro lado, se contaron **20 diferencias** cuando se compararon 200 pb (o sitios) de una región mitocondrial sin funcionalidad aparente.

a) Calcule la tasa de sustitución nucleotídica **k** por sitio y por año para cada una de las dos regiones utilizando el modelo de sustitución Jukes-Cantor $k = -\frac{3}{4} * \ln(1 - \frac{4}{3} * p)$, donde **p** es la proporción de cambios observados. **(1 punto)**

nuclear: $p = 4/200 = 0.02$ ---> $k=0.0203$ (acumulada desde la divergencia)

$6 \cdot 10^6$ millones de años x 2 ramas desde el antecesor común = $12 \cdot 10^6$ millones de años
k por sitio y por generación = $0.0203/12 \cdot 10^6 = 1,69 \cdot 10^{-9}$

mitocondrial: $p = 20/200 = 0.1$ ---> $k=0.1073$ (acumulada desde la divergencia)

$6 \cdot 10^6$ millones de años x 2 ramas desde el antecesor común = $12 \cdot 10^6$ millones de años
k por sitio y por generación = $0.1073 /12 \cdot 10^6 = 8,94 \cdot 10^{-9}$

b) Determine si las tasas de divergencia de las dos regiones genómicas son realmente diferentes y, en caso de que lo sean, proponga una explicación de esa diferencia. **(1 punto)**

Grados de libertad	Probabilidad						Distribución χ^2	
	0.70	0.50	0.30	0.20	0.10	0.05	0.01	0.001
1	0.15	0.46	1.07	1.64	2.71	3.84	6.64	10.83
2	0.71	1.39	2.41	3.22	4.60	5.99	9.21	13.82
3	1.42	2.37	3.66	4.64	6.25	7.82	11.34	16.27

Chi cuadrado de independencia de la serie: 4, 20, 196, 180 = 11,34 (1 gl)

Hay diferencias significativas entre las tasas de sustitución de las dos regiones.

Si las dos series son equivalentes a nivel funcional, la explicación más plausible es que la tasa de mutación en la mitocondria es más alta que en el genoma nuclear (asumiendo que las dos regiones son representativas de sus correspondientes genomas).

2/4- La inversión paracéntrica (no incluye al centrómero) 2LT afecta a la mayor parte del brazo izquierdo del cromosoma 2 de *Drosophila melanogaster*. Esta inversión está presente a una frecuencia intermedia variable en todas las poblaciones naturales de la especie.

a) Explique por qué no se esperan óvulos con desequilibrios cromosómicos en las meiosis de hembras heterocigotas. Realice un esquema o explíquelo razonadamente. (1 punto)

Solo uno de los productos meióticos genera un óvulo.

Los sobrecruzamientos meióticos dentro de la inversión paracéntrica producen puentes anafásicos cuyos productos no suelen incluirse en el óvulo, aparentemente porque sufren un retraso en la orientación de los productos meióticos. Por lo tanto no representarían una disminución de la fertilidad. Esto no ocurre con las inversiones pericéntricas lo que explicaría su rareza en poblaciones naturales.

b) Diga por qué no se esperan gametos desequilibrados en las meiosis de machos heterocigotos. (0.5 puntos).

Los machos de *Drosophila* son aquiasmáticos por lo que no generan gametos desequilibrados por sobrecruzamientos dentro de la inversión.

c) Ud. se inicia en el estudio de los cambios estacionales de la frecuencia de la inversión 2LT en poblaciones naturales. La técnica clásica para clasificar a los individuos como heterocigotos u homocigotos de cualquiera de los dos tipos consiste en la realización de preparaciones de cromosomas politénicos y la identificación de la inversión al microscopio. Sin embargo, esta es una labor demasiado pesada para Ud. ya que exige el cultivo de las moscas capturadas y el conocimiento detallado de los puntos de rotura y reunión de la inversión. Proponga un método molecular de clasificación de genotipos para la inversión, que sea rápido y barato y que no precise de la elaboración de preparaciones de microscopía. Tenga en cuenta que, en la actualidad, los puntos de rotura y reunión de la inversión 2LT están perfectamente caracterizados a nivel de secuencia de ADN. (0.5 puntos)

Colocando un primer a cada lado de uno de los puntos de rotura y reunión, se podría establecer una prueba de identificación del genotipo por PCR seguida de electroforesis. Por ejemplo:

Ordenación estándar:



Ordenación invertida:

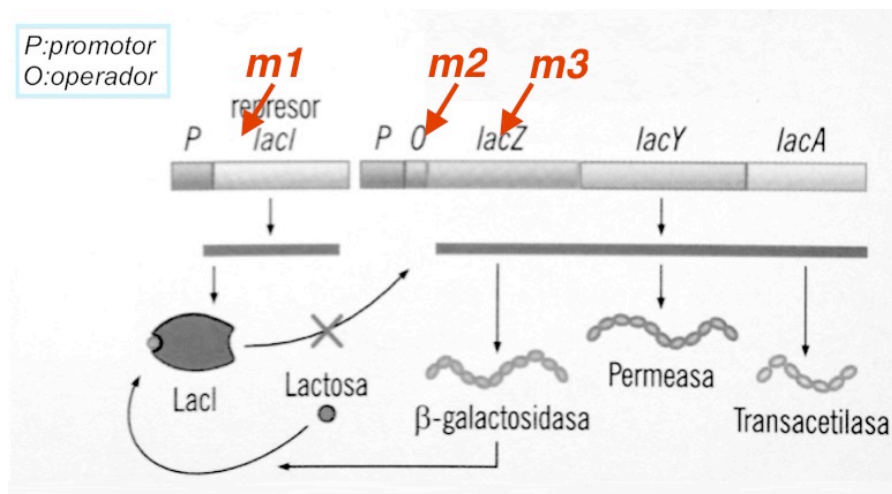


(se admiten otros procedimientos)

3/4- Se han aislado tres cepas de *E. coli* (*m1*, *m2* y *m3*) con alteraciones de actividad β -galactosidasa. En el laboratorio se dispone de otras dos cepas *g1* y *g2* con factores *F* que contienen una copia del operón lactosa. El factor *F'* de la cepa *g1* contiene una deleción en la región del represor *lacI* que anula su función. El factor *F'* de la cepa *g2* tiene una deleción que inactiva el gen *lacZ*. El resultado del análisis de la actividad β -galactosidasa de cada uno de los tres mutantes y de los diploides parciales obtenidos por conjugación entre las cepas "g" y las "m" es el siguiente:

	actividad beta-galactosidasa								
	m1	m2	m3	m1/F'g1	m2/F'g1	m3/F'g1	m1/F'g2	m2/F'g2	m3/F'g2
con lactosa	+	+	-	+	+	+	+	+	-
sin lactosa	+	+	-	+	+	-	-	+	-

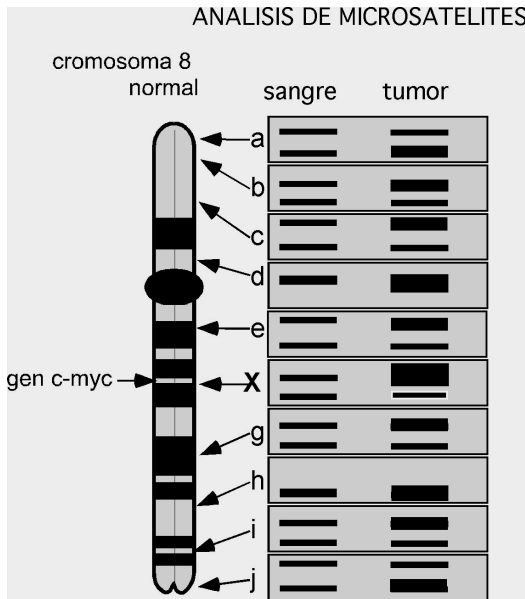
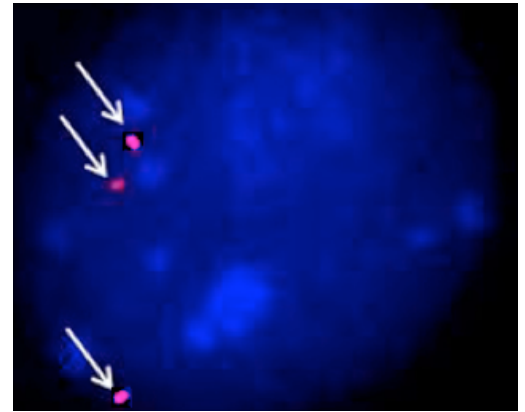
Indique donde espera encontrar las mutaciones que alteran la función en cada uno de los tres mutantes *m* cuando se secuencien. (2 puntos)



(hay otras posibilidades para algunas mutaciones)

4/4- Se analizó una biopsia procedente de un tumor gástrico por tres procedimientos diferentes orientados a determinar el número de copias del proto-oncogén *c-myc* localizado en el cromosoma 8:

1 - El análisis mediante FISH de núcleos interfásicos con sonda del gen *c-myc* da consistentemente imágenes como la de la fotografía ----->



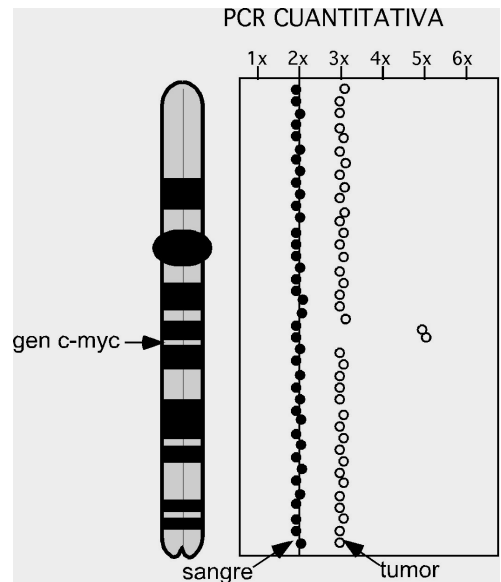
2 - La electroforesis de productos de amplificación mediante PCR de varios microsatélites distribuidos a lo largo del cromosoma donde se localiza el gen da el resultado que se indica en este esquema ----->

(se midió la intensidad de la fluorescencia de las bandas, observándose que hay variaciones significativas indicadas en el esquema mediante distintos grosores de banda)

3 -La cuantificación del número de copias de distintas regiones del cromosoma 8 se realizó por PCR en tiempo real (o PCR cuantitativa) mediante amplificaciones con una batería de unas 50 parejas de primers distribuidas a lo largo del cromosoma. Esta cuantificación dio los resultados que se indican en el esquema para una muestra del tumor y otra muestra de sangre del mismo individuo ----->

(el mismo tipo de información se puede obtener con otras técnicas)

Especule sobre los cambios ocurridos en el tumor en relación al gen *c-myc* y al cromosoma 8. (2 puntos)



La cuantificación de dosis genómica por PCR cuantitativa, la señal de la electroforesis y el FISH indican una trisomía del cromosoma 8 (no podemos decir nada del resto de los cromosomas). El aumento de señal de dosis en la región del gen *c-myc* (5x) y el hecho de que se observen solo tres señales en el FISH sugieren una duplicación segmental en tándem en dos de las copias cromosómicas. No hay pérdida de heterocigosidad. Este dato conjuntamente con el resto sugieren que primero ocurrió la duplicación segmental en uno de los cromosomas y luego la duplicación de ese cromosoma.