

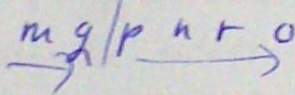
5. Opišite način kako bi iz izhodišnega seva, ki je prototrofen za vse aminokisliline izolirali sev, ki je avksotrofen za levcin in valin (3 točki)

(leu- val-)

3. Vraunem prototrofen sev in najprej z neko metodo izbudimo mutacije, npr. z UV mutagenozo, ~~in~~ kemično mutagenozo. Bakterije, podvržene mutageni, namerno u ~~u~~ bogatem gojišču do posameznih kolonij. Posamezne kolonije pikiramo v mrežo u hranilnem gojišču. Mrežo odčitavamo u selektivni gojišču: minimalno g. (MG) MG + Leu, MG + Val, MG + Leu + Val. Kolonije, ki u zraste na MG, MG + Leu, MG + Val, zraste pa u MG + Leu + Val, je sev, ki g. iščemo.

6. Pri seriji konjugacij Hfr sevov, ki so $m^+ n^+ o^+ p^+ q^+ r^+$ z recipienti, ki so $m^- n^- o^- p^- q^- r^-$ dobimo sledeča zaporedja prenosov posameznih lastnosti pri posamezni konjugaciji: (2 točki)

- a. Hfr5 $\overrightarrow{m^+ q^+ p^+ n^+ r^+ o^+}$
- b. Hfr4 $\overrightarrow{n^+ r^+ o^+ m^+ q^+ p^+}$
- c. Hfr1 $\overrightarrow{o^+ m^+ q^+ p^+ n^+ r^+}$
- d. Hfr9 $\overrightarrow{q^+ m^+ o^+ r^+ n^+ p^+}$



Kakšno je zaporedje genov na krožnem bakterijskem kromosomu. Napišite vrstni red začenši s p!

p n r o m q

7. Opišite razliko med splošno in specializirano transdukcijo (2 točki)

2. Splošna transdukcija lahko izvajajo litični at ~~liticni~~ ^{teupe-}ratni fagi. Pri pakiranju fagne DNA u kapsidi u ditičnem ciklu u u kapsido vključijo del fragmentirane kromosomske DNA, ki u z okuibo uve u lice s fagom transducir u to uro u lice. S tem u uveljavimo lahko transducir ditičeli del DNA. Spec. transdukcija lahko izvajajo zgolj teupentni fagi, tj. lizogeni, ki se vključijo u bakt. kromosom. Ti u naravno vključijo u določeno spec. mesto u kromosomu. Ko se pri litičnem ciklu izrečejo, lahko vključijo uro u lice.

8. Kakšni sta seleksijski gojišči (za izolacijo transkonjugant) za sledeči konjugaciji? (2 x 1,5 točke = 3 točke)

- 1. donor: CL203 his⁻ leu⁻ thi⁻ / pRC1 leu⁺
- recipient: CL210 arg val thr leu⁺ : Tn1721 Tet^R / pRC1 leu⁻

nska. CL210 arg val thr leu⁺ : Tn1721 Tet^R / pRC1 leu⁻
MG + Arginin + valin + streonin

shčajo uro u lice izrečejo se del kromosoma, ki je varen, u ga vramajo s sabo u kapsido. S tem se pnušajo le določeni deli kromosoma. gustotajnega

selekcijsko gojišče: MG + arginin + valin + treonin

2. donor: CL510 ^{avhidrofr} proA Leu⁻:Tn3589 / pRK100 ^{a 12} lac ile Amp Str

recipient: CL270 ^{avhidrofr} his arg Val Tet^r / pRK100 lac ile Amp Str

selekcijsko gojišče: MG + His + Arg + Val + Amp ^{ampicilin}
histidin arginin valin (ali Str) ^{streptomycin}

10. Kako nastanejo Hfr sevi in kako funkcionalni plazmidi, ki imajo zapise kromosomske DNA? (2 točki)

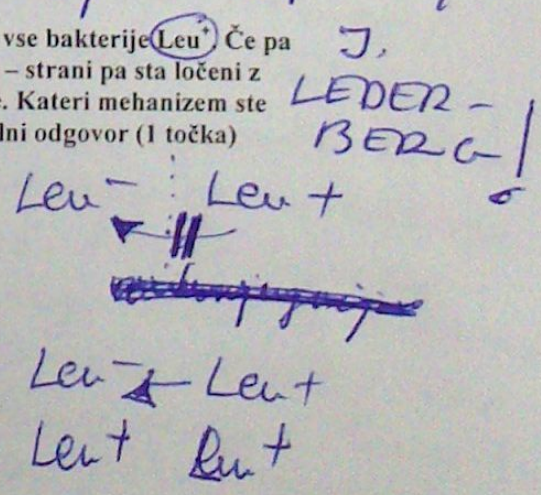
Hfr sevi nastanejo s Hfr konjugacijo, ^{v kromosomno vzgojitev} ko tj. kofkri konjugativnem frizozoplazmida v recipienta prenese tudi del kromosomske DNA denerja, ki se nato lahko rekombinira v recipientu kromosom. Funkcionalni plazmidi s kromosomske DNA lahko nastane z uapadnim inverzovom v kromosom vzgojitev plazmida, tak da ta inverz tudi del kromosomske DNA. Ta plazmid se potem neodvisno podroja in prenosa, ^{ima in daje 2 to podobne dele.}

11. Navedite in na kratko opišite najpogostejše fenotipe, ki jih uporabljamo v bakterijski genetiki! (2 točki)

- o uniplozija kolonij (barva, konsistencija...) - se ^{ima in daje 2 to podobne dele.}
- o avhidrofrnost - najpogostejša za amivohitolezo; ~~ta~~ sevi ne morejo sami prizemjati ja. k. in jih potrebujejo v gojišču; tudi ~~za~~ sluhujejo w. ^{dotičnih} ~~sluhujejo~~
- o resistencija - na antibiotike - zaradi mutacij ali HGT

12. bakterije, ki so Leu⁻ pomešamo z bakterijami, ki so Leu⁺. Kmalu postanejo vse bakterije Leu⁺. Če pa oba seva ločimo in damo enega na eno stran U-cevi, drugega pa na drugo stran - strani pa sta ločeni z membrano, ki je nepropustna za bakterije, Leu⁻ celice ne postanejo prototrofne. Kateri mehanizem ste opazovali v prvem primeru, ko ste pomešali bakterije skupaj? Obkrožite pravilni odgovor (1 točka)

- a. konjugacijo
- b. transdukcijo
- c. transformacijo



16. Ugotavljanje titra bakteriofaga in frekvence transdukcije: $\overset{\text{kon.}}{=} \frac{\text{šf. transduktant (p.cfu/mL)}}{\text{kon. fagov (p.cfu/mL)}}$

vaše dobljene fagne lizate ste razredčili v epruvetah 10^{-7} , 10^{-8} in 10^{-9} . K indikatorski bakterijski kulturi v mehkeemu agarju ste dodali po 100 μl posameznega razredčenega fagnega lizata in vsebino razlili preko plošče hranilnega agarja. Po 24-urni inkubaciji ste prešteli plake. Na plošči (10^{-7}) = 787 plakov, na plošči (10^{-8}) = 65 plakov in na plošči (10^{-9}) = 5 plakov. Kakšen je titer fagov v vašem fagnem lizatu? (Izračunajte »navadno« povprečje).

Kakšna bi bila frekvenca transdukcije za gen *xdf*, če bi ta fagni lizat uporabili za transdukcijo gena *xdf* in bi zraslo na selekcijskih ploščah v povprečju 56 transduktant/ml transduksijske mešanice? (3 točke)

Titer fagov: $1,94 \cdot 10^{11} \frac{\text{pfu}}{\text{mL}}$

Frekvenca transdukcije gena *xdf*: $2,9 \cdot 10^{-12}$

$$10^{-7} \rightarrow 787 \cdot 10^8 = 7,87 \cdot 10^{10}$$

$$10^{-8} \rightarrow 65 \cdot 10^9 = 6,5 \cdot 10^{10}$$

$$10^{-9} \rightarrow 5 \cdot 10^{10} = 5 \cdot 10^{10}$$

$$\bar{x} = 19,37 \cdot 10^{10}$$

$$\bar{x} = 1,94 \cdot 10^{11} \frac{\text{pfu}}{\text{mL}}$$

$$\text{transd.} = 56 \frac{\text{cfu}}{\text{mL}} \quad \text{titer} = 1,94 \cdot 10^{11} \frac{\text{pfu}}{\text{mL}}$$

$$= \frac{56}{1,94} \cdot 10^{-11} = 29 \cdot 10^{-11} = 2,9 \cdot 10^{-12}$$

17. Zakaj v genetiki uporabljamo mutagenozo? (1 točka)

Mutagenozo uporabljamo za proizvodnjo rekombinantnih (npr. avtostrajnih) sevov, ki jih nato uporabljamo za proučevanje raznih testih funkcionalnega gena (npr. regulacije icl).

18. Kako lahko v laboratoriju namnožimo litične (virulentne) in lizogene (temperantne) fage? (2 točki)

Litični fage množimo tako, da s fagnim lizatom zmešamo bakterije, fagi okužijo bakterije in se namnožijo, ter lizirajo bakterije.

Lizogeni fage (vključno v kromosom) množimo s množitvijo bakterij, ~~ki jih~~ v katerih kromosom so vključeni. Če hočemo imeti proste fage, izdeležemo litični cikel.

lahko tudi