

Soluciones de la serie de ejercicios 3 (Curso 7.012)

Stardate 7.012.10.4.00 Diario personal del Médico militar del USS Hackerprise

Al regresar de una misión en Europa, su compañero de tripulación, Noslen, se pone muy enfermo. Explora a Noslen en búsqueda de señales de infección y descubre que está incubando un virus alienígena.

Pregunta 1

a) Descubre que este virus porta ácidos nucleicos, proteínas y lípidos. También averigua que este virus puede infectar a las células de *E. coli*, pudiéndose así analizar fácilmente en el laboratorio.

i) Cultiva este virus con uno de los siguientes radioisótopos: ^{32}P , ^3H , or ^{35}S .

¿Qué macromolécula viral será marcada con ^{32}P ?

Los ácidos nucleicos

¿Qué macromolécula viral será marcada con ^3H ?

Todas

¿Qué macromolécula viral será marcada con ^{35}S ?

Las proteínas

ii) Analiza el ácido nucleico y encuentra lo siguiente:

Porcentaje				
A	G	T	C	U
27.6	23.2	28.1	24.0	0.8

¿Qué ácido nucleico tiene el virus? ¿Por qué?

El virus tiene ADN de doble hebra, como indican los porcentajes: %A = %T, %C = %G. El uracilo está contaminando el ARN.

b) Dado que se trata de un virus alienígena, usted quiere determinar qué macromolécula (ácidos nucleicos, proteínas y lípidos) constituye el material hereditario. Explique cómo procedería.

De manera análoga al experimento de Hershey – Chase, infectaría las células con virus ^{32}P . Después de un breve período de tiempo, separaría las partículas del virus de las células y examina donde se encuentra el ADN ^{32}P en las partículas del virus progenio. Repetiría esos pasos utilizando un virus clasificado como ^{35}S .

Pregunta 2

a) Crixon, el científico vulcaniano, examina la replicación del ADN para determinar si es semejante a la replicación del ADN en la tierra. Construye un sistema in vitro para la replicación del ADN.

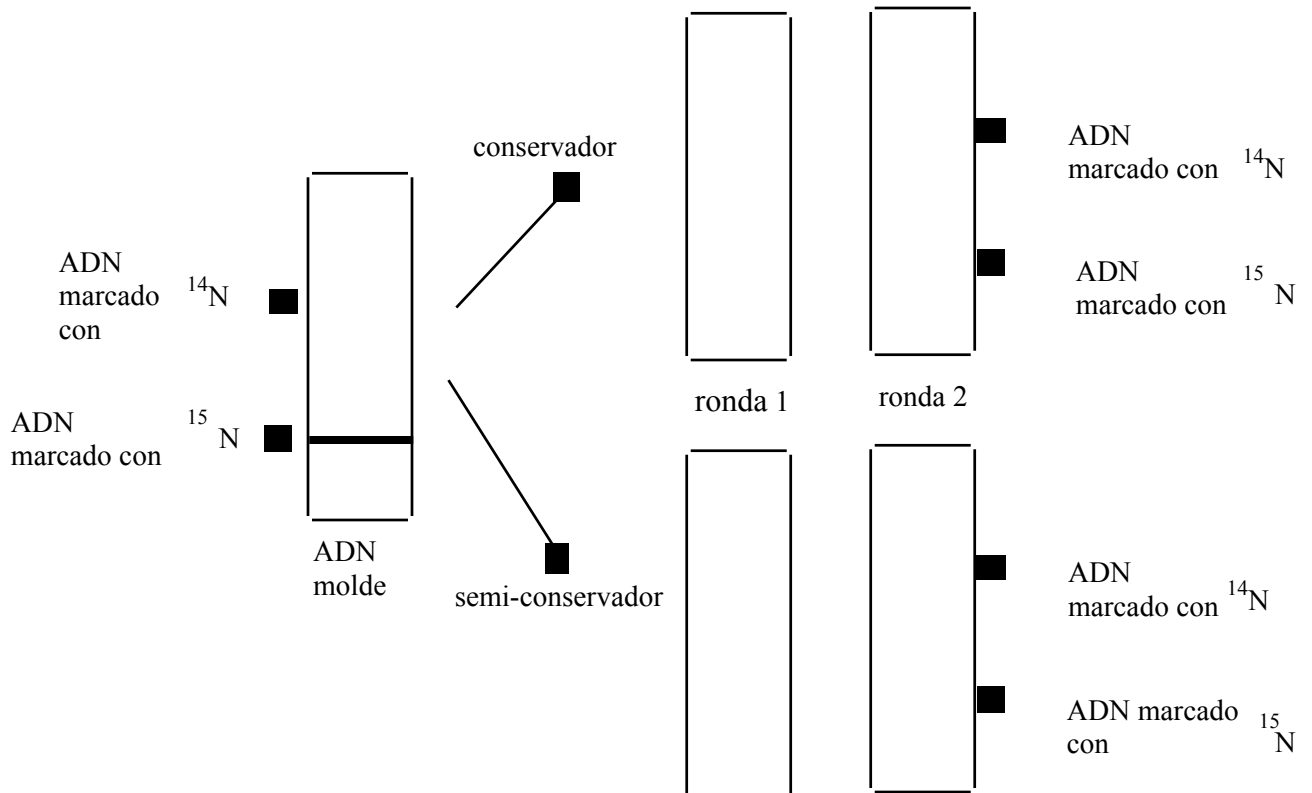
i) ¿Cuáles son los 4 componentes que debe incluir en su sistema?

plantilla de ADN, cebador, dNTPs, polimerasa de ADN, ligasa, helicasa, topoisomerasa, proteína SSB.

ii) Antes de la replicación, todo el ADN molde está marcado con ^{15}N . ¿Dónde se encuentra el nitrógeno en el ADN?

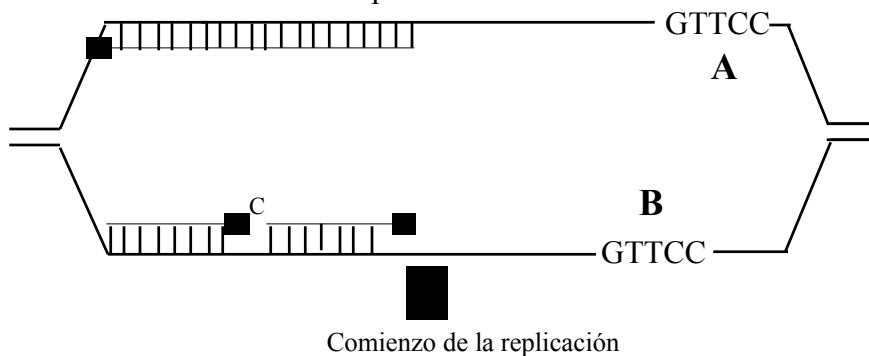
El nitrógeno se encuentra en las bases del ADN.

iii) Repite los experimentos de Meselson-Stahl. En el siguiente diagrama, dibuje los resultados que se podrían esperar en cada prueba en los 2 tipos de replicación: conservadora y semi-conservadora.



Pregunta 2, continuación

b) Ha inventado un generador de imágenes (imager) de tamaño nanoscópico que le permite examinar un comienzo de replicación del ADN. El ordenador le facilita el siguiente dibujo. Vemos como la replicación está teniendo lugar en ambas hebras y como las dos bifurcaciones se están separando cada vez más.



i) Marque los extremos 3' y 5' de las 5 hebras de ADN. Indique qué hebras en particular son fragmentos de Okazaki.

ii) ¿Qué enzima se requiere en C del anterior diagrama?

ADN ligasa

iii) ¿A qué sitio (A o B o **ambos**) puede unirse el cebador 5'-CAAGG-3' para iniciar la replicación?

B

iv) Para cada sitio escogido en iii), ¿cuál es la dirección de elongación (**izquierda** o **derecha**) de la hebra hija de ADN?

Derecha

v) Para cada sitio escogido en iii), ¿la síntesis de ADN se lleva a cabo de un modo **continuo** o **discontinuo** en relación con la hebra de replicación más cercana?

Continuo

c) Más miembros de la tripulación del USS Hackerprise comienzan a encontrarse mal a causa de la infección vírica. Mientras le da vueltas al tema, observa que ningún miembro de la tripulación vulcaniana está enfermo. Habla con Crixon, su colega vulcaniano. Ella se intriga y le da una muestra de células vulcanianas. Entonces, decide mezclar el virus con las células vulcanianas hacer un seguimiento del ciclo de la infección en las células sanguíneas vulcanianas. Cuando analiza las células vulcanianas, observa que el ADN vulcaniano está altamente modificado con grupos metil en ciertas bases y que hay una nucleasa peculiar en las células vulcanianas que desorganiza el ADN regular, no modificado. ¿Puede proponer un modelo que explique la inmunidad vulcaniana?

Las células vulcanianas contienen una nucleasa endógena, una enzima que escinde el ADN. cuando el virus infecta la célula e inyecta ADN viral, esta nucleasa destruye el ADN viral antes de que pueda copiarse, transcribirse y traducirse. Esta nucleasa no daña el ADN vulcaniano porque éste ha sido modificado de tal forma que la nucleasa no puede unirse y escindir. En las células bacterianas se emplea un mecanismo similar. EcoRI, una enzima de restricción encontrada en E. Coli, no corta el ADN de E.Coli porque está modificado, pero cortará ADN extraño que se introduzca en la célula.

Pregunta 3

Su caracterización preliminar del nuevo virus va por buen camino. Descubre que este virus tiene 1 cromosoma y distingue un segmento del ADN que cree que otorga al virus su capacidad para infectar. El equipo médico del Starfleet quiere que corte ese segmento de ADN y que lo coloque en un vector para que sea enviado al Centro de Investigación Médica de Omega Prime. Mostramos a continuación un esquema del fragmento deseado del gen viral y una porción de ADN.

```
5' AGTACTTATCGCGCGGCCTATA Gen de la infectividad TATAGTACAGTCGACCTTAGGCCT 3'
3' TCATGAATAGCGCGCCGGATAT  ATATCATCTCAGCTGGAATCCGGA 5'
```

a) A continuación mostramos un set de enzimas de restricción (Purves, pp.312-315) que tiene en su congelador. Al lado del nombre de la enzima en cuestión vemos su secuencia (de 5' a 3') y una flecha que señala el lugar donde la enzima “corta”.

i) Señale la enzima o enzimas que NO PUEDEN cortar el fragmento de ADN mostrado arriba.

Sólo Afa I y Sal I pueden cortar, como se muestra arriba.

ii) Señale cuál es la enzima (s) que deja extremos romos.

iii) Señale la enzima o enzimas que dejan extremos salientes después de cortar.

√Sna B I TAC↓GTA

√Afa I GT↓AC

*Eco R I G↓AATTC

*Sal I G↓TCGAC

iv) ¿Qué enzima única emplearía para quitar el gen del ADN viral?

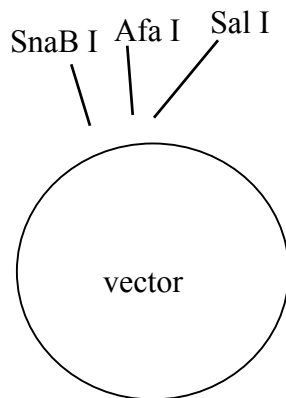
Afa I

v) ¿Qué par de enzimas diferentes podría utilizar?

Afa I y Sal I

Pregunta 3, continuación

b) Desea insertar el fragmento en el vector que mostramos más abajo:



i) ¿Qué enzima o enzimas usaría para cortar los fragmentos deseados del ADN viral?

- 1) *Afa I*
- 2) *Afa I y Sal I juntos*

ii) ¿Qué enzima o enzimas usaría para cortar el vector de ADN?

Si se emplea el 1) de i): Afa I (se podría usar también Afa I y SnaBI juntos o sólo SnaB I, pero esta no es la mejor opción. Véase d) abajo)

Si se usa el 2) de i): AFAI y Sal I

c) Supongamos que emplea una única enzima para cortar tanto el vector como el fragmento.

i) Tras la ligazón del fragmento y el vector, ¿cuántos sitios para esa enzima tendrá el ADN resultante?

Dos sitios

ii) ¿Cuántas moléculas de ADN posibles pueden resultar de este tipo de ligazón?

La inserción no es simétrica y tiene dos orientaciones posibles con respecto al vector. Por tanto, se pueden obtener dos moléculas de ADN distintas de dicha ligación.

d) Le pasa las maravillosas instrucciones detalladas arriba a un técnico del laboratorio Ferengi. Éste echa a perder el experimento, utilizando sólo la enzima SnaB I para cortar el vector de ADN, y la Afa I para cortar el fragmento del ADN viral. A continuación liga el fragmento cortado al vector cortado.

i) ¿Puede arreglar este desbarajuste volviendo a extraer el fragmento con SnaB I? Explique porque sí o porque no.

ii) ¿Puede arreglar este desbarajuste volviendo a extraer el fragmento con Afa I? Explique porque sí o porque no.

No puede extraer los fragmentos de este vector con Sna BI o Afa I. Cuando los dos extremos romos se unen, la secuencia resultante es:

5' . . . TACAC . . . 3'
3' . . . ATGTG . . . 5'

Pregunta 4

Los científicos del Centro Médico del Starfleet reciben finalmente su vector, pero encuentran muchas dificultades a la hora de transcribir el vector de DNA con el fragmento. En su tubo de reacción, tienen el tampón estándar de síntesis de ARN, el vector de ADN con el fragmento, ADN polimerasa y los trifosfatos ATP, GTP, TTP, y CTP.

a) Usted piensa, “¡Claro!”, e inmediatamente les envía un paquete con polimerasa ARN y UTP, lo que les debería permitir sintetizar con éxito ARN del vector de ADN que contiene el fragmento.

b) Usted piensa que es probable que los científicos del Centro Médico del Starfleet Medical requieran los componentes necesarios para sintetizar proteínas a partir del ARN que ahora saben hacer. ¿Qué tres componentes esenciales necesita enviar a estos científicos para que puedan sintetizar proteínas a partir del ARN viral?

Ribosomas, ARNt, aminoácidos (o ARNt cargados)

c) Mientras tanto, en el USS Hackeprise, desarrolla un análogo de nucleótido denominado Ketracell Indigo que puede utilizar como tratamiento contra este virus. El Ketracell Indigo se adapta al centro catalítico del ARN Polimerasa del virus e impide que el ARN Polimerasa viral se ligue al ADN. ¿Qué efecto tendrá el Ketracell Indigo en la transcripción vírica?

El Ketracell Indigo detendrá la transcripción viral que esté en marcha, e impide una nueva transcripción viral.

d) El técnico de Ferengi propone emplear Furomitin. El Furomitin es una molécula que semeja un ARNt (transferente) cargado con aminoácidos. Se une al sitio A de los ribosomas y causa la terminación prematura de la síntesis proteica. ¿Cuál cree que es el mejor fármaco contra esta infección? Explique su razonamiento.

¿Y cómo termina toda esta historia ?

No sólo cura a todos los miembros de su tripulación sino que se le reconoce el haber salvado a la mitad de las vidas humanas del USS Hackerprise. Starfleet le otorga el Premio Bashir de biología y medicina, la mayor distinción en el ámbito científico, y se crea un día festivo en su nombre. La Academia Científica del Starfleet le concede una cátedra, sonde continua escribiendo series de ejercicios para torturar a los alumnos de la Academia. Y todos son felices y comen perdicés. Fin.



