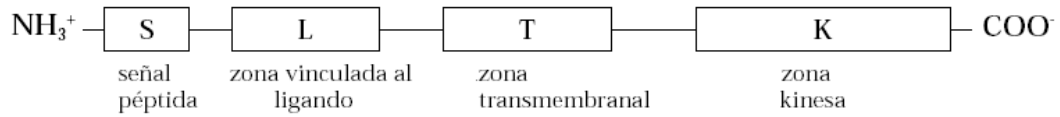


Pregunta 1

Parte A

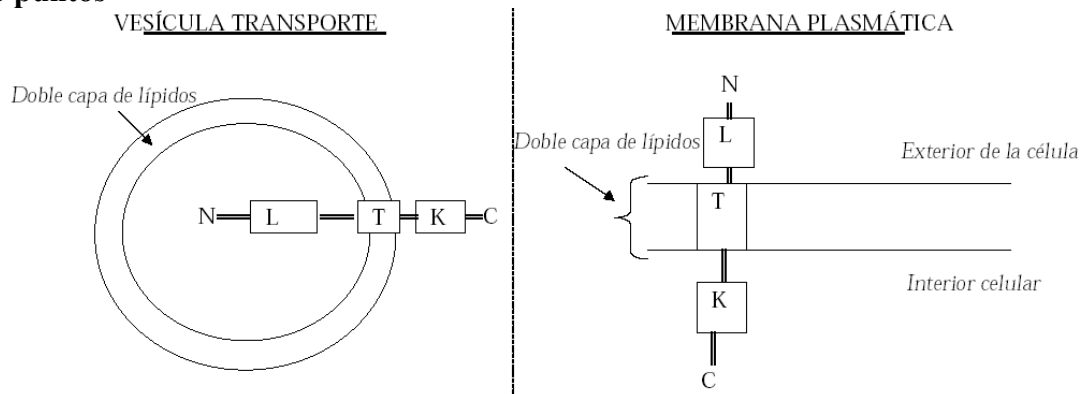
Está estudiando un receptor llamado el Receptor del Factor del Tamaño o SF-R situado en una eucariótica haploide. A continuación encontrará una proteína del SF-R:



Para ser localizado en la membrana plasmática, el SF-R tiene que pasar por varias etapas en el interior de la célula.

a) Dibuje una configuración del SR-R tal y como aparecería en la vesícula de transporte (después de RER) y en la membrana plasmática de debajo. Clasifique las zonas apropiada y los términos N y C de la proteína.

8 puntos



b) La partícula de reconocimiento de señal (SRP) dirige la péptida SF-R naciente hacia... (rodee con un círculo)

Aparato de Golgi
2 PUNTOS

Retículo Endoplasmático

Núcleo

Lisosomae

Pregunta 1, continuación

Parte B

El SF-R ha sido identificado como receptor de la tirosina quinasa. Cuando el ligando SF se une a SF-R, se activa una cascada de transducción de señal. La señalización mediante SF-R origina la expresión de las proteínas necesarias para un tamaño celular normal. Si la señalización mediante SF-R se interrumpe, la célula es más pequeña.

Para estudiar las zonas de la proteína SF-R con más detalle, aísla tres mutantes de SF-R. Cultiva cada uno de los mutantes en presencia de SF y mide dos propiedades: la localización de SF-R y el tamaño de la célula.

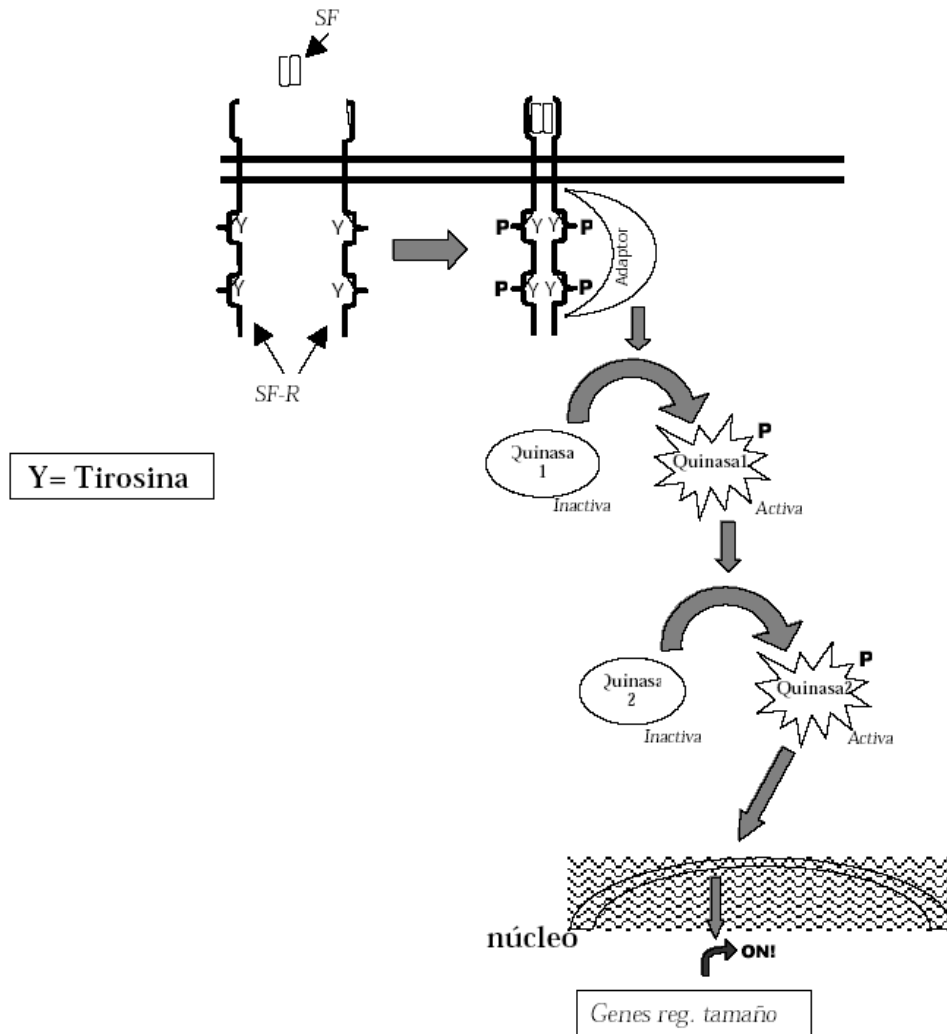
c) Indique dónde sería consistente **cada una** de las mutaciones en SF-R [(S)(L)(T)(K), descritas abajo] con los fenotipos observados que figuran en la lista de mutantes de la tabla siguiente:

- (S) supresión de la zona de secuencia de señal solamente
- (L) supresión de la zona de unión del ligando
- (T) supresión de la zona transmembranal solamente
- (K) supresión de la zona de quinasa solamente.

Cepa	Fenotipos		
	Localización SF-R	Tamaño	Posible(s) Mutación(es)
Tipo salvaje	membrana plasmática	normal	ninguna
Mutante 1	membrana plasmática	pequeño	L, K
Mutante 2	citoplasma	pequeño	S
Mutante 3	exterior célula/secretada	pequeño	T

Pregunta 1, continuación

El siguiente dibujo describe la cascada de señalización de la célula que origina la expresión de los genes que determinan el tamaño de la célula.



d) Si añade a las células de tipo salvaje una forma de SF que se una irreversiblemente a SF-R, ¿qué efecto tendrá en la vía de señalización corriente debajo de SF-R?
3 puntos

No tendrá efecto

Siempre activo

Siempre Inactivo

e) Aísla ADN de otra cepa mutante y secuencias el gen SF-R. Descubre que hay mutaciones que cambian los dos aminoácidos de tirosina (Y) en la zona citoplasmática por alanina. (Puede suponer que estas mutaciones no afectan el plegamiento ni la localización de SF-R) ¿Qué efecto tendrá esto en la vía de señalización corriente debajo de SF-R? **3 puntos**

No tendrá efecto

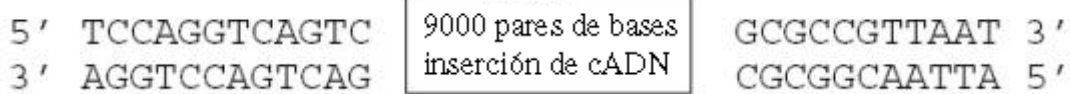
Siempre activo

Siempre Inactivo

Pregunta 2

Está interesado en saber por qué el equipo de los Red Sox juegan tan mal al béisbol, así que analiza muestras de sangre de los jugadores. Descubre en los jugadores una proteína única a la que llama “YksSk”, que puede explicar por qué tienen esa técnica tan mala. La completa caracterización de esta proteína requeriría litros de sangre de los jugadores (cosa que no mejoraría su técnica), así que decide expresar la proteína YksSk en bacterias.

Examina una biblioteca de ADNc e identifica un clon positivo al que llama pYS. Usted conoce la secuencia de ADN plásmido adyacente a su inserción de ADNc (se muestra a continuación)

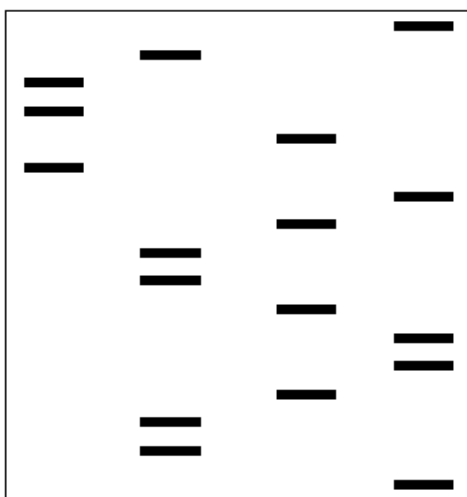


Para secuenciar esta inserción, utiliza los siguientes cebadores:

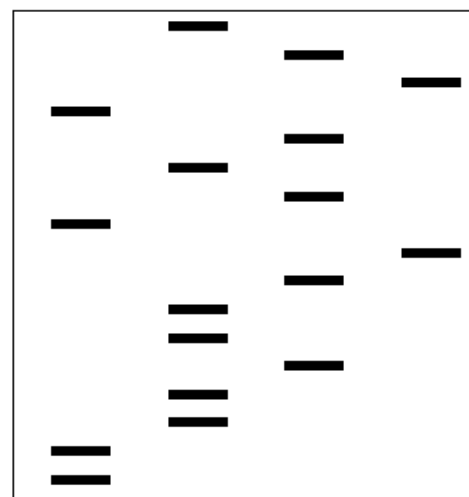
Cebador 1: 5' TCAGTC 3'

Cebador 2: 5' CGGCGC 3'

Secuencia con el Cebador 1
ddCTP ddATP ddTTP ddGTP



Secuencia con el Cebador 2
ddCTP ddATP ddTTP ddGTP



a) ¿Cuál de las siguientes secuencias sería válida para la hebra superior de su inserción de ADN, tal y como se determina en las tablas de secuencia anteriores? Elija una. **4 puntos**

5' GAATGGTAATGCTCCAG..... . . .CCAATAATGCTATCGTA 3'

5' GAATGGTAATGCTCCAG..... . . .ATGCTATCGTAATAACC 3'

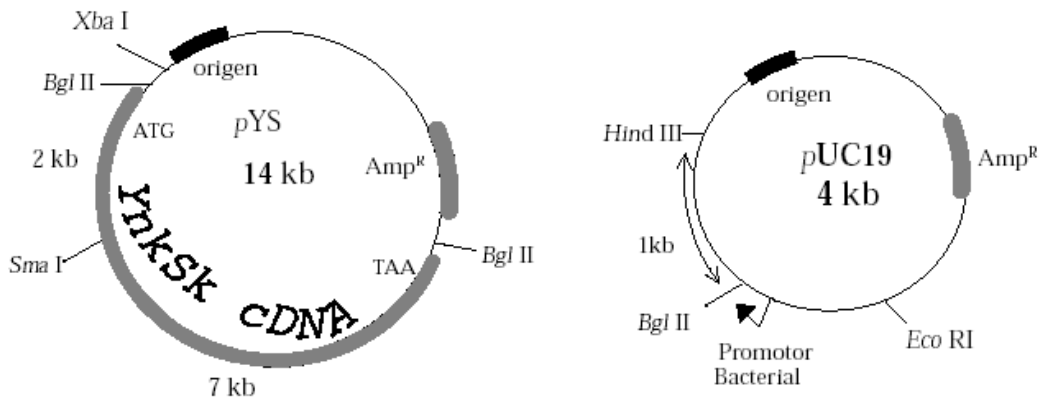
5' GACCTCGTAATGGTAAG..... . . .CCAATAATGCTATCGTA 3'

5' ATGCTATCGTAATAACC..... . . .GACCTCGTAATGGTAAG 3'

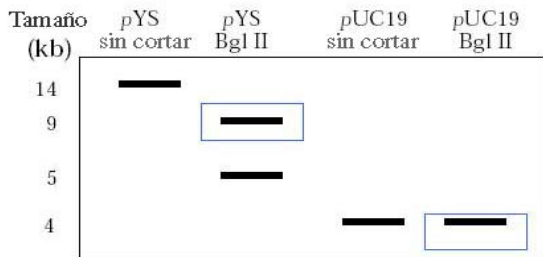
5' GAATGGTAATGCTCCAG..... . . .TACGATAGCATTATTGG 3'

Pregunta 2, continuación

Ahora quiere expresar esta proteína en una bacteria. A continuación se muestra el clon cDNA, pYS, que aisló. Este plásmido carece de promotor bacteriano, así que decide clonar el gen YksSk en pUC19 que posee un promotor bacteriano en él. (Véase a continuación.)



Mezcla pYS y pUC19 con BglII y realiza las reacciones en gel de agarosa en los plásmidos no mezclados (sin cortar). Después de teñir el ADN, obtiene los siguientes resultados:



b) ¿Qué fragmentos purificaría para mezclar en la ligación? Rodee los fragmentos correctos de la tabla de arriba. **4 puntos**

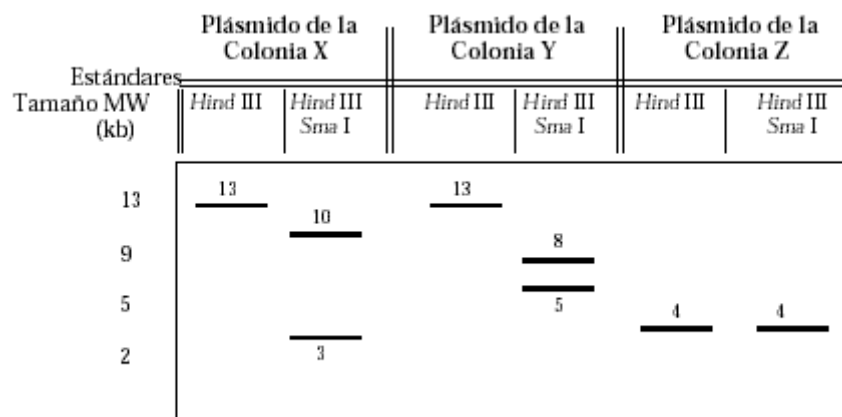
c) Transforma células con su mezcla de ligación. ¿Qué tiene que añadir al medio de las placas Petri para aislar **solamente** bacterias que contengan un plásmido?

3 puntos

AMPICILINA

Pregunta 2, continuación

Escoge tres colonias (X, Y y Z), aísla su plásmido ADN y realiza un análisis de restricción. La tabla resultante es la siguiente:



d) Indique el plásmido contenido en cada colonia. Elija los plásmidos que aparecen al final de esta página (p1, p2, p3)

5 puntos

Colonia X contiene **p1**

Colonia Y contiene **p3**

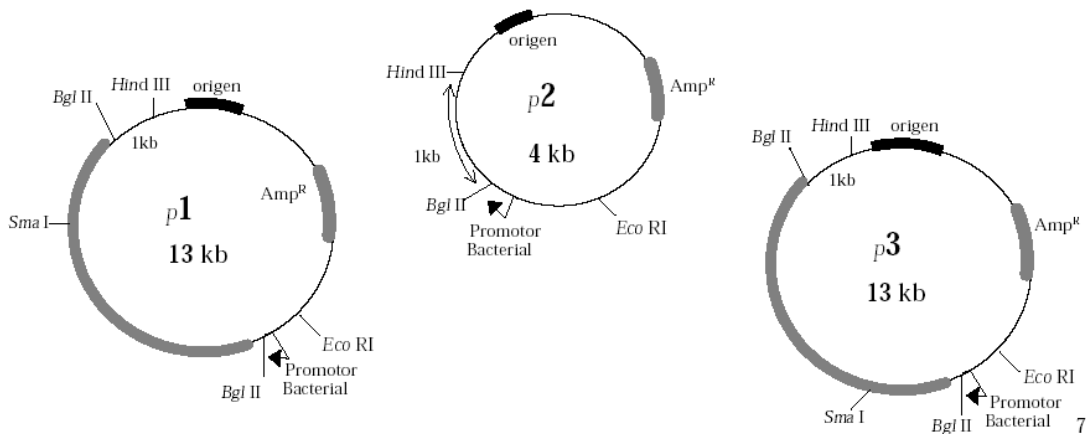
Colonia Z contiene **p2**

e) ¿Qué plásmido podría encontrar mediante “clonación o hibridación” empleando el ADN de YksSk como sonda? **2 puntos**

p1 y p3

f) ¿Qué plásmido usaría para purificar la proteína YksSK? **p3**

3 puntos



Pregunta 2, continuación

Para purificar la proteína, añade cuatro histidinas al término N de YksSk, ya que estas histidinas se unirán fuertemente al níquel, permitiéndole separar el YksSk de las proteínas bacterianas.

g) Dados los siguientes extremos codificadores en el gen YksSk, ¿qué dos cebadores PCR elegiría para amplificar el gen YksSk y añadir cuatro histidinas en el término N de YksSk? (Nota: el codón para la histidina es CAU)

GEN YksSk

5' ATG CGG ATA CGT CGG CTT CCC TAA 3'
 3' TAC GCC TAT GCA GCC GAA GGG ATT 5'

6 puntos

Rodee con un círculo **un** cebador de **cada** columna para la amplificación de PCR

Cebador A	Cebador B
5' ATG CGG ATA CGT 3'	5' CGG CTT TAA GTA GTA GTA GTA TAA 3'
5' ACG CAT CAT CAT CAT TAT CCG CAT 3'	5' CGG CTT CCC TAA 3'
5' ATG CAT CAT CAT CAT ATG CGG ATA 3'	5' TTA GGG AAG CCG 3'
5' ACG TAT CCG CAT 3'	5' TTA ATG ATG ATG ATG GGG AAG CCG 3'

h) Elige sus cebadores y los añades al tubo de PCR, además de unas plantilla de ADN de YksSk y polimerasa Taq. Prepara la máquina PCR para llevar a cabo 30 series de amplificación. Después de realizar la reacción en gel de agarosa y de teñir el gel para el ADN, ¿no consigues ver **nada**! Su compañero de laboratorio, que le ha estado observando, sonrío satisfecho al contemplar su gran error. ¿Qué ha pasado?

3 puntos

Olvidó añadir los nucleótidos (¡¡NO LAS ARMAS NUCLEARES!!)

Pregunta 3

El gen *lacZ* codifica la enzima galactosidasa β que metaboliza la lactosa en *E. Coli*. El operón *lac* en *E. Coli* está regulado de forma transcripcional por la proteína represora Lac I, cuya acción inhibe la unión de la lactosa. La región cromosómica del operón es la siguiente:

P_I	<i>lacI</i>		P_{lac}	O	<i>lacZ</i>
P_I	es el promotor del gen <i>lacI</i>				
<i>lacI</i>	codifica la proteína represora				
P_{lac}	es la secuencia promotora de <i>lacZ</i>				
O	es la secuencia del operador				
<i>lacZ</i>	codifica galactosidasa β , la enzima que divide la lactosa				

Se han analizado los niveles de galactosidasa β en los siguientes mutantes realizados, en presencia o ausencia de lactosa:

"+"	indica tipo salvaje
"-"	indica una mutación que disminuye la función
"O ^c "	indica operador que confiere expresión constitutiva de <i>lacZ</i>

a) Indique el nivel de galactosidasa β para cada genotipo, empleando los términos BAJO o ALTO. **6 puntos.**

genotipo	- lactosa	+ lactosa
$I^+ P_{lac}^+ O^+ Z^+$	bajo	alto
$I^- P_{lac}^+ O^+ Z^+$	<i>alto</i>	<i>alto</i>
$I^+ P_{lac}^+ O^c Z^+$	<i>alto</i>	<i>alto</i>
$I^+ P_{lac}^- O^+ Z^+$	<i>bajo</i>	<i>bajo</i>

b) Complete la tabla para los siguientes diploides bacterianos:
8 puntos

	<u>Cromosoma</u> <u>plásmida F'</u>	- lactosa	+ lactosa
1.	$\frac{I^+ P_{lac}^+ O^+ Z^+}{I^+ P_{lac}^+ O^+ Z^+}$	bajo	alto
2.	$\frac{I^+ P_{lac}^+ O^c Z^+}{I^+ P_{lac}^+ O^+ Z^+}$	<i>alto</i>	<i>alto</i>
3.	$\frac{I^+ P_{lac}^+ O^+ Z^+}{I^+ P_{lac}^+ O^c Z^-}$	<i>bajo</i>	<i>alto</i>
4.	$\frac{I^+ P_{lac}^+ O^+ Z^-}{I^- P_{lac}^- O^+ Z^+}$	<i>bajo</i>	<i>bajo</i>
5.	$\frac{I^+ P_{lac}^+ O^+ Z^+}{I^- P_{lac}^+ O^+ Z^-}$	<i>bajo</i>	<i>alto</i>

c) Rodee los componentes que actúan **SÓLO en cis**.





lacI

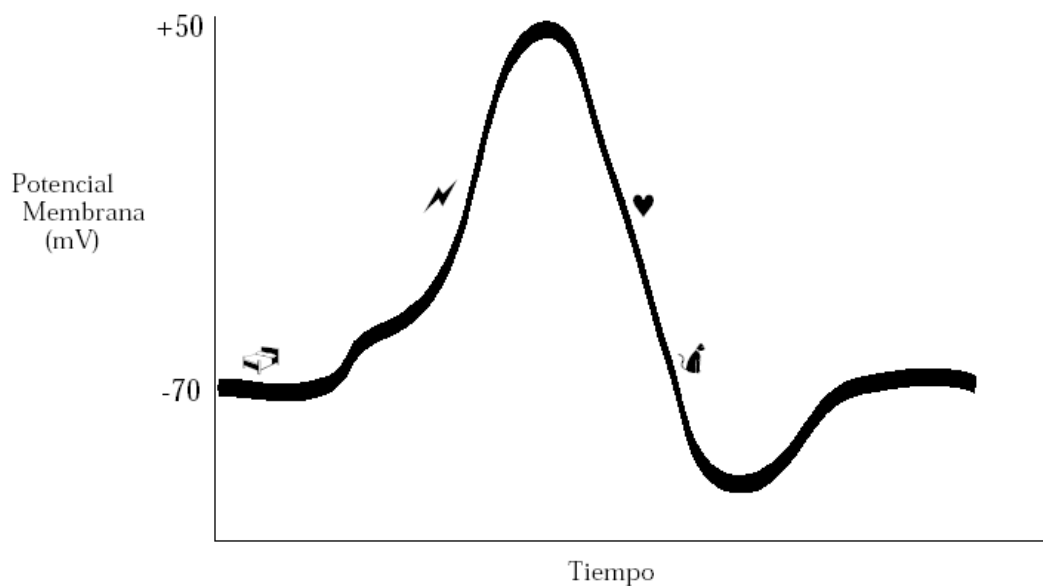
P_{lac}

O

lacZ

Pregunta 4

A continuación verá el diagrama de un potencial de acción medido en un solo punto en un axón. Se han destacado cuatro puntos a lo largo de la curva , , , .



a) En la siguiente tabla, identifique qué ión (Na⁺, K⁺, Ca⁺⁺, Cl⁻) realiza el flujo neto mayor en la membrana en los puntos indicados y establezca la dirección del ión (hacia el interior o el exterior de la célula). **6 puntos**

Punto	Ión	Dirección (interior/exterior)
⚡	Na ⁺	interior
♥	K ⁺	exterior

b) El potencial de membrana es -70 mV en los puntos ⚡ y ♥, del diagrama de arriba. ¿Cuál de los canales de ión dependientes por voltaje está cerrado en el punto ⚡ y abierto en el punto ♥?

3 puntos

canal de K⁺ dependiente por voltaje

c) ¿Qué dicta el cierre del canal dependiente por voltaje que está abierto en el punto ⚡?

3 puntos

TIEMPO

d) El canal de Na⁺ dependiente de voltaje existe al menos en tres estados. En ♥ del diagrama anterior, ¿en qué estado estaría la mayor parte de los canales Na⁺ dependientes de voltaje? **3 puntos**

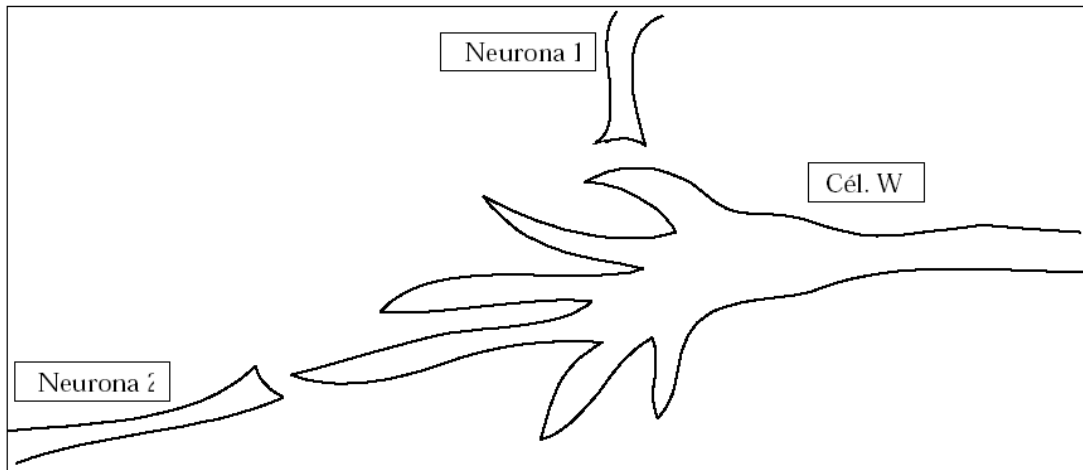
abierto

cerrrado

inactivo

Pregunta 4, continuación

Dos neuronas diferentes presinápticas, neurona 1 y neurona 2, realizan la sinapsis en la célula W como se muestra a continuación. Cuando se estimula la neurona 1, la membrana de la célula se despolariza localmente. Cuando se estimula la neurona 2, la membrana de la célula W se despolariza localmente, exactamente de la misma forma observada en la neurona 1.



e) Elija la frase correcta: **3 puntos**

- **Si se estimulan de la misma forma, es más probable que la neurona 1 origine un potencial de acción en la célula W que la neurona 2.**
- Si se estimulan de la misma forma, es más probable que la neurona 2 origine un potencial de acción en la célula W que la neurona 1.
- Si se estimulan de la misma forma, ambas neuronas tiene la misma probabilidad de originar un potencial de acción en la célula W.

f) Indique si las siguientes frases serían VERDADERAS o FALSAS) en caso de que fuera expuesto a una toxina que bloquea irreversiblemente los canales Ca^{++} dependientes por voltaje. **6 puntos**

V	F	Sinapsina une las vesículas secretoras.
v	F	Sus músculos sufrirían una contracción rígida.
v	F	Vesículas secretoras con neurotransmisores se fusionarían con la membrana plasmática

2ª Posición Codón

		U		C		A		G		
1º Posición Codón	U	UUU	phe (F)	UCU	ser (S)	UAU	tyr (Y)	UGU	cys (C)	U
		UUC	phe (F)	UCC	ser (S)	UAC	tyr (Y)	UGC	cys (C)	C
		UUA	leu (L)	UCA	ser (S)	UAA	STOP	UGA	STOP	A
		UUG	leu (L)	UCG	ser (S)	UAG	STOP	UGG	trp (W)	G
C	CUU	leu (L)	CCU	pro (P)	CAU	his (H)	CGU	arg (R)	U	
	CUC	leu (L)	CCC	pro (P)	CAC	his (H)	CGC	arg (R)	C	
	CUA	leu (L)	CCA	pro (P)	CAA	gln (Q)	CGA	arg (R)	A	
	CUG	leu (L)	CCG	pro (P)	CAG	gln (Q)	CGG	arg (R)	G	
A	AUU	ile (I)	ACU	thr (T)	AAU	asn (N)	AGU	ser (S)	U	
	AUC	ile (I)	ACC	thr (T)	AAC	asn (N)	AGC	ser (S)	C	
	AUA	ile (I)	ACA	thr (T)	AAA	lys (K)	AGA	arg (R)	A	
	AUG	met (M)	ACG	thr (T)	AAG	lys (K)	AGG	arg (R)	G	
G	GUU	val (V)	GCU	ala (A)	GAU	asp (D)	GGU	gly (G)	U	
	GUC	val (V)	GCC	ala (A)	GAC	asp (D)	GGC	gly (G)	C	
	GUA	val (V)	GCA	ala (A)	GAA	glu (E)	GGA	gly (G)	A	
	GUG	val (V)	GCG	ala (A)	GAG	glu (E)	GGG	gly (G)	G	

3ª Posición Codón