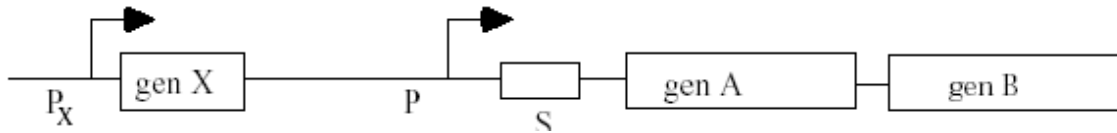


## Pregunta 1

En *E.coli*, el operón ficticio AB es inducido por la presencia del componente W. A continuación se muestra un diagrama del operón, sus proteínas reguladoras y los centros reguladores.



- P<sub>x</sub> promotor de la proteína reguladora.
- X gen que determina la proteína reguladora del operón AB.
- P promotor de los genes AB.
- S secuencia importante para la regulación de W.
- A gen estructural para la enzima A.
- B gen estructural para la enzima B.

La tabla siguiente muestra los genotipos de diferentes cepas con un operón AB de tipo salvaje y varios operones AB mutantes, así como el número de moléculas de proteína A por célula en ausencia o en presencia del componente W. (-W o +W, respectivamente)

- I) En esta tabla, el símbolo “+” indica que el gen o elemento de control está funcional (tipo salvaje) y “-” indica que el gen o elemento de control no está funcional. Considere que los genes que no están en la lista son de tipo salvaje.

Cepa	X	P	S	A	Moléculas de A		Expresión
					-W	+W	
Tipo salvaje	+	+	+	+	0	200	inducible
M1	-	+	+	+	200	200	
M2	+	-	+	+	0	0	
M3	+	+	-	+	200	200	
M4	+	+	+	-	0	0	

- II) Marque cada cepa de la tabla anterior como inducible, no inducible o constitutiva.
  
- III) Basándose en los datos anteriores, ¿la proteína reguladora X actúa como represor o como activador del operón AB? Explique su razonamiento.

Pregunta 1, continuación

- IV) Realiza diploides parciales de varias cepas mutantes de *E. Coli* introduciendo plásmido de una sola copia en la célula *E. Coli*. En las células de los siguientes genotipos, prediga el número de moléculas de la enzima A por célula (0, 200, 400) producidas en ausencia o en presencia del compuesto W (-W o + W, respectivamente). Escriba el número total de moléculas de la enzima A en las líneas.

Genotipo	Número de moléculas de enzima A por célula	
	-W	+W
X <sup>+</sup> P <sup>+</sup> S <sup>+</sup> A <sup>+</sup> X <sup>+</sup> P <sup>+</sup> S <sup>+</sup> A <sup>-</sup>	0	400
X <sup>+</sup> P <sup>+</sup> S <sup>+</sup> A <sup>+</sup> X <sup>+</sup> P <sup>+</sup> S <sup>+</sup> A <sup>-</sup>	0	200
X <sup>+</sup> P <sup>+</sup> S <sup>+</sup> A <sup>+</sup> X <sup>-</sup> P <sup>+</sup> S <sup>+</sup> A <sup>+</sup>	—	—
X <sup>+</sup> P <sup>+</sup> S <sup>-</sup> A <sup>+</sup> X <sup>+</sup> P <sup>+</sup> S <sup>+</sup> A <sup>+</sup>	—	—
X <sup>-</sup> P <sup>+</sup> S <sup>+</sup> A <sup>+</sup> X <sup>+</sup> P <sup>+</sup> S <sup>+</sup> A <sup>-</sup>	—	—
X <sup>+</sup> P <sup>+</sup> S <sup>-</sup> A <sup>+</sup> X <sup>+</sup> P <sup>+</sup> S <sup>+</sup> A <sup>-</sup>	—	—
X <sup>+</sup> P <sup>+</sup> S <sup>-</sup> A <sup>-</sup> X <sup>+</sup> P <sup>+</sup> S <sup>+</sup> A <sup>+</sup>	—	—

### Pregunta 1, continuación

A continuación va a examinar un operón diferente, el operón H, que contiene los genes 1 y 2 que codifican las enzimas 1 y 2. En este operón, el compuesto H actúa como inductor. Observe los niveles de ADN, ARNm y proteína en una típica célula *E. Coli*. Éstos son los resultados:

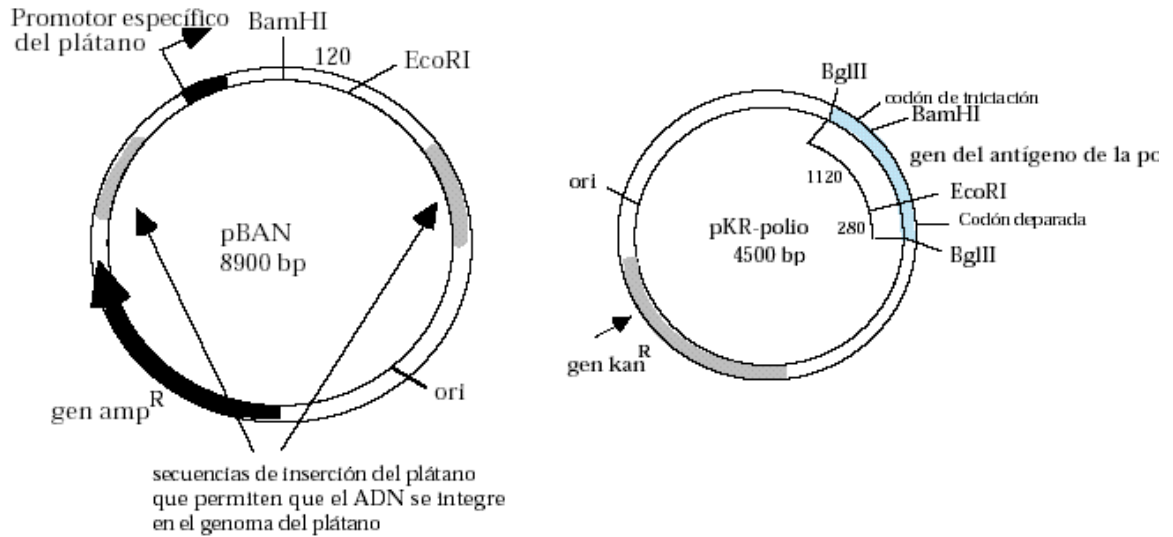
		-H	+H
ADN	Núm de copias del gen 1 por célula	1	1
ARNm	Núm de copias del gen 1 ARNm por célula	50	50
proteína	Núm de moléculas de la enzima 1 por célula	0	200

V) ¿En qué etapa de la expresión del gen podría ocurrir esta regulación? Explique su razonamiento.

VI) En el operón lac, regulado en el nivel transcripcional, el represor de la proteína está presente en *E. Coli* en una proporción aproximada de 4 moléculas por célula. En el operón H, la proteína represora está presente en una proporción aproximada de 200 moléculas por célula. Basándose en su respuesta al apartado c), ¿por qué cree que habrá más moléculas de la proteína represora para el operón H por célula que moléculas del represor lac por célula?

## Pregunta 2

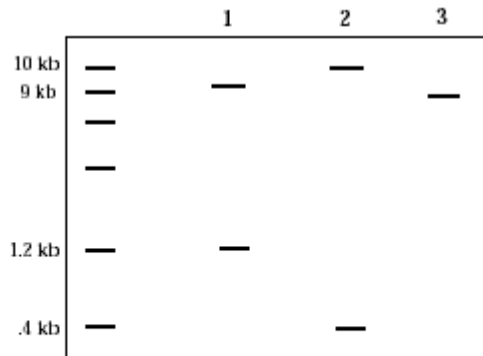
La polio ha sido prácticamente erradicada entre la población estadounidense, sin embargo, esta enfermedad aún existe en países donde las personas no tienen apenas acceso a las vacunas. Como usted es un biólogo con una visión global, quiere crear un plátano transgénico que produzca la proteína utilizada en la vacuna contra la polio. Consumiendo estos plátanos, las personas serían inmunes a la enfermedad. El gen de esta proteína ya ha sido clonado en un plásmido con un gen resistente a la kanamicina (pKR-polio). Usted tiene que unir el gen a un promotor específico del plátano así como las secuencias de ADN que hagan posible que el gen se incorpore al ADN del plátano. Dichas secuencias se encuentran en el plásmido BAN que contiene un gen resistente a la ampicilina. A continuación se muestran mapas de estos dos plásmidos, que incluyen sitios de restricción importantes y distancias entre las sitios (en pares de bases).



- a) Un extremo generado por la digestión con BamHI puede estar unido a un extremo generado por la digestión con BglII. ¿Por qué es posible esto?
- b) Quiere introducir el gen codificador del antígeno de la polio en pBAN. Diseñe una estrategia para llevar esto a cabo. Identifique la enzima o enzimas que usaría para cortar pBAN, las enzimas que usaría para cortar pKR-polio y los pasos necesarios para generar plásmido intacto.
- c) Seguidamente, transformará *E. Coli* con los plásmidos que ha creado. Cultivará las células transformadas en un medio que contenga (escoja una):  
 Ampicilina  
 Kanamicina  
 Ampicilina y kanamicina  
 Ni ampicilina ni kanamicina

¿Por qué?

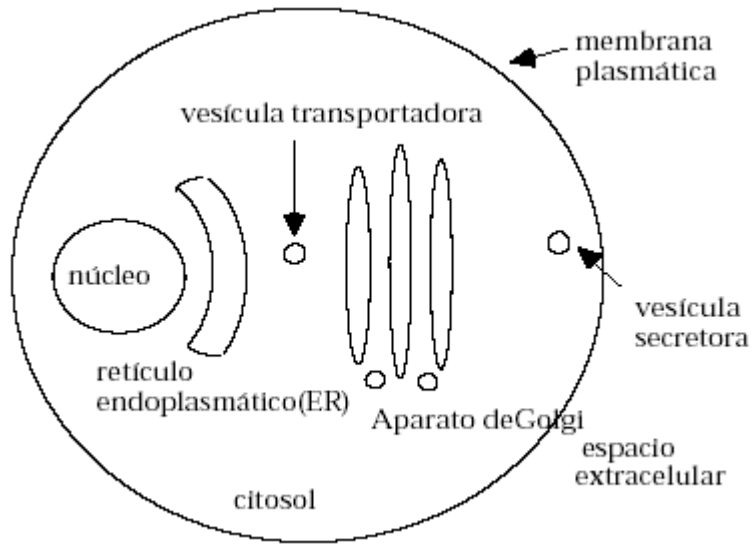
- d) Aísala ADN plásmido de tres colonias que superen su test de resistencia a los antibióticos. Digiere el ADN con la enzima de restricción EcoRI. Evalúa por separado los fragmentos resultantes de cada plásmido en un gel de agarosa. Obtiene los siguientes resultados. El tamaño de los fragmentos de ADN se indica a la izquierda.



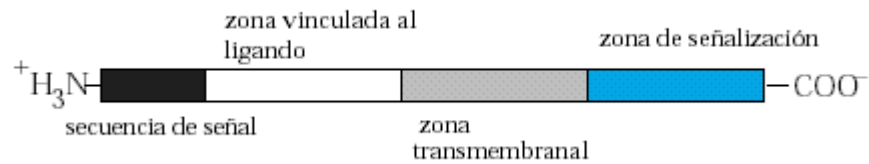
- d)
- I) Empleando los datos anteriores, dibuje los plásmidos asociados a las colonias 1, 2 y 3. Indique todas las características relevantes como el promotor, el origen de la reproducción, los genes resistentes a la ampicilina y el antígeno de la polio.
- II) ¿Cuál de los tres plásmidos permitiría la síntesis de la proteína en un plátano? Explique su razonamiento.

### Pregunta 3

Utilice este diagrama de una célula como guía cuando responda a las siguientes preguntas.



a) Considere la siguiente proteína receptora:



- I) ¿Dónde estaría localizada esta proteína receptora si la célula carece de SRP? ¿Sería funcional?
- II) ¿Dónde estaría localizada esta proteína receptora si se eliminase su zona de señalización? ¿Sería funcional?

III) ¿Qué característica común comparten las cadenas laterales de los aminoácidos encontrados en una zona transmembranal? ¿Por qué?

IV) ¿Qué zona (**unida al ligando, transmembrana o señalización**) de la proteína receptora de tipo salvaje se introduce en el lumen del retículo endoplasmático durante la traducción? ¿Por qué la proteína receptora tiene que introducirse de esta forma para ser funcional?

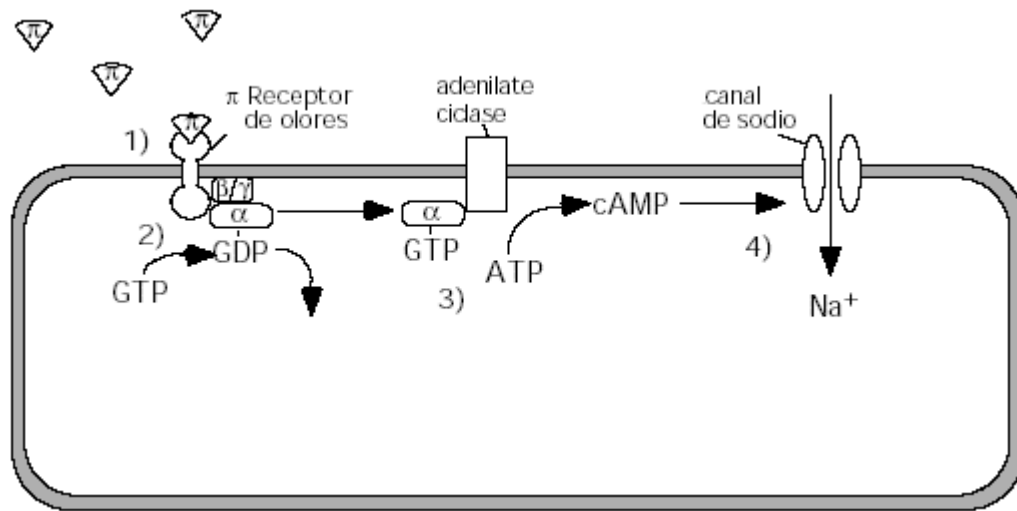
b) El ARNm maduro, que codifica una proteína destinada a la secreción, especifica una cadena polipéptida de 497 aminoácidos. Sin embargo, la proteína que en realidad secreta la célula tiene una longitud de 475 aminoácidos.

I) ¿Cómo explica esta diferencia de longitud?

II) ¿Mostraría esta disparidad una proteína transmembrana?

#### Pregunta 4

Considere la siguiente vía de transducción de señal de un oloroso pastel de calabaza.



- 1) Una molécula de olor del pastel ( $\pi$ ), uno de los muchos componentes aromáticos presentes en un pastel de calabaza, está vinculada un receptor olfativo unido a una proteína G específica que se encuentra en una célula olfativa de la nariz.
  
- 2) El complejo receptor de los olores activa una proteína G que desplaza a GDP y se une a una molécula de GTP.
  
- 3) La subunidad  $\pi$  de la proteína G disocia y activa el adenilato ciclasa que cataliza la producción de cAMP de ATP.

- 4) cAMP se une a un canal de sodio, abriéndolo y permitiendo que  $\text{Na}^+$  entre en la célula. Esto provoca un estímulo nervioso que llega al cerebro. Éste integra la señal odorizante  $\pi$  con señales de otros receptores olfativos de la nariz. El cerebro interpreta las señales como el olor del pastel de calabaza. Y usted piensa: “Mmm... ¡pastel!”

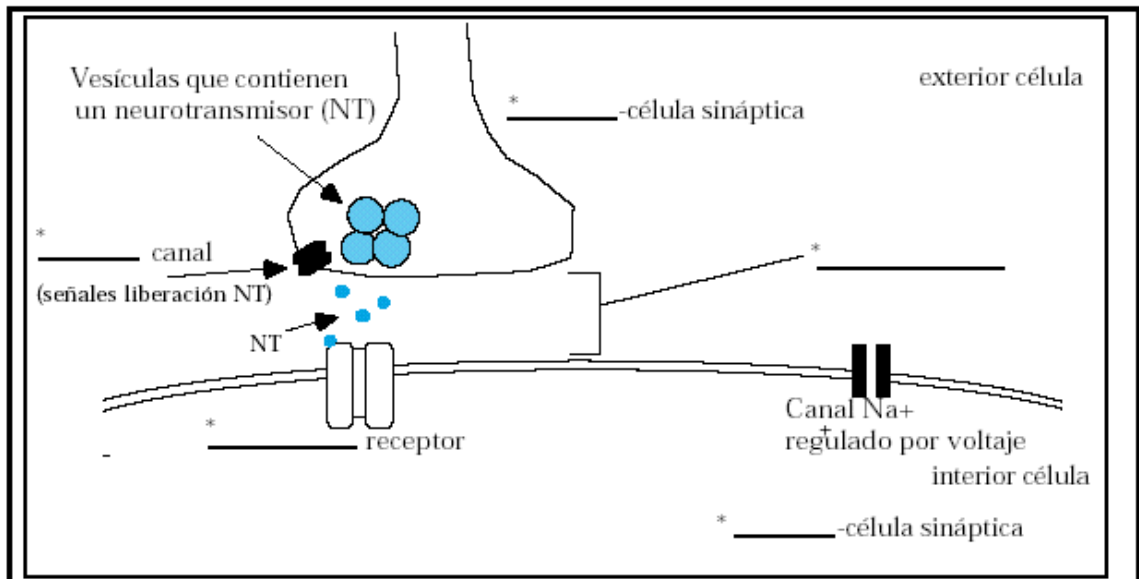
#### Pregunta 4, continuación

- a) ¿Cómo estimula la molécula unida al odorizante  $\pi$  la proteína receptora y cómo activa ésta la proteína G?
- b) Aunque podría ser agradable estar oliendo continuamente el pastel, una vez que los odorizantes  $\pi$  desaparecen, la señalización se detiene. ¿Cómo se detiene la vía de señalización? Razone por qué una vez que la proteína G se ha activado, no activa continuamente el adenilato ciclasa. ¿Qué reacción química se genera en este proceso?
- c) Enumere dos ventajas de que haya múltiples pasos en una vía de transducción de señal.

- d) Una molécula de olor de pavo entra en contacto con el receptor odorizante  $\pi$ . ¿Haría esto que se enviase el estímulo nervioso desde esta célula olfativa? Explique su respuesta.

### Pregunta 5

- a) Rellene los huecos (\* \_\_\_\_\_) de este esquema de un cruce **neuromuscular**.



- b) Describa brevemente qué provoca la liberación de neurotransmisores en esta sinapsis.

- c) Describa brevemente los acontecimientos que, cuando se ha liberado el neurotransmisor, derivan en una despolarización lo suficientemente grande para causar una contracción muscular.

## SOLUCIONES

### Pregunta 1

a)

i)

Cepa	X	P	S	A	-W	+W	Expresión
Tipo salvaje	+	+	+	+	0	200	inducible
M1	-	+	+	+	200	200	constitutiva
M2	+	-	+	+	0	0	no inducible
M3	+	+	-	+	200	200	constitutiva
M4	+	+	+	-	0	0	no inducible

l) La proteína X actúa como represora. En los mutantes 1 y 3, que carecen tanto de represor como de lugar unido al represor, la expresión es constitutiva. (Alta con o sin W).

b) Escriba el número total de moléculas de la enzima A en las líneas.

Genotipo	Número de moléculas de enzimas A por célula	
	-W	+W
X <sup>+</sup> P <sup>+</sup> S <sup>+</sup> A <sup>+</sup>	0	400
X <sup>+</sup> P <sup>+</sup> S <sup>+</sup> A <sup>+</sup>		
X <sup>+</sup> P <sup>+</sup> S <sup>+</sup> A <sup>+</sup>	0	200
X <sup>+</sup> P <sup>+</sup> S <sup>+</sup> A <sup>-</sup>		
X <sup>+</sup> P <sup>+</sup> S <sup>+</sup> A <sup>+</sup>	0	400
X <sup>-</sup> P <sup>+</sup> S <sup>+</sup> A <sup>+</sup>		
X <sup>+</sup> P <sup>+</sup> S <sup>-</sup> A <sup>+</sup>	200	400
X <sup>+</sup> P <sup>+</sup> S <sup>+</sup> A <sup>+</sup>		
X <sup>-</sup> P <sup>+</sup> S <sup>+</sup> A <sup>+</sup>	0	200
X <sup>+</sup> P <sup>+</sup> S <sup>+</sup> A <sup>-</sup>		
X <sup>+</sup> P <sup>+</sup> S <sup>-</sup> A <sup>+</sup>	200	200
X <sup>+</sup> P <sup>+</sup> S <sup>+</sup> A <sup>-</sup>		
X <sup>+</sup> P <sup>+</sup> S <sup>-</sup> A <sup>-</sup>	0	200
X <sup>+</sup> P <sup>+</sup> S <sup>+</sup> A <sup>+</sup>		

### Pregunta 1, continuación

c) ¿En qué etapa de la expresión del gen podría ocurrir esta regulación? Explique su respuesta.

*La regulación tiene lugar durante la traducción. Con el componente H o sin él, el número de copias de ADN y ARNm es el mismo. Sin embargo, el número de moléculas*

*de la enzima I aumenta en presencia de un inductor. La regulación tiene que ocurrir durante la síntesis de proteínas porque sólo los niveles de proteínas varían en presencia o en ausencia de un inductor.*

## Pregunta 2

a) Un extremo generado por la digestión con BamHI puede estar unido a un extremo generado por la digestión con BgIII. ¿Por qué es posible esto?

*La digestión con BgIII o BamHI produce los mismos salientes o extremos cohesivos. Así, los extremos producidos por el corte con BgIII se complementan con los extremos producidos con BamHI, y tienen lugar el apareamiento de bases y la ligación.*

b) Quiere introducir el gen codificador del antígeno de la polio en pBAN. Diseñe una estrategia para llevarlo a cabo. Identifique la enzima o enzimas que usaría para cortar pBAN, las enzimas que usaría para cortar pKR-polio y los pasos necesarios para generar plásmido intacto.

*Cortar pBAN con BamHI para linearizar.*

*Cortar pKR-polio con BgIII. Esto genera un fragmento de 1.400 pares de bases que contiene el gen del antígeno de la polio y otro fragmento de 3.100 pares de bases.*

*Seleccione el tamaño de ADN del plásmido de polio pKR para obtener el fragmento de 1400 pares de bases.*

*Una el fragmento de 1400 pares de bases con el plásmido pBAN cortado.*

e) Seguidamente, transformará *E. Coli* con los plásmidos que ha creado. Cultivará las células transformadas en un medio que contenga (escoja una):

Ampicilina

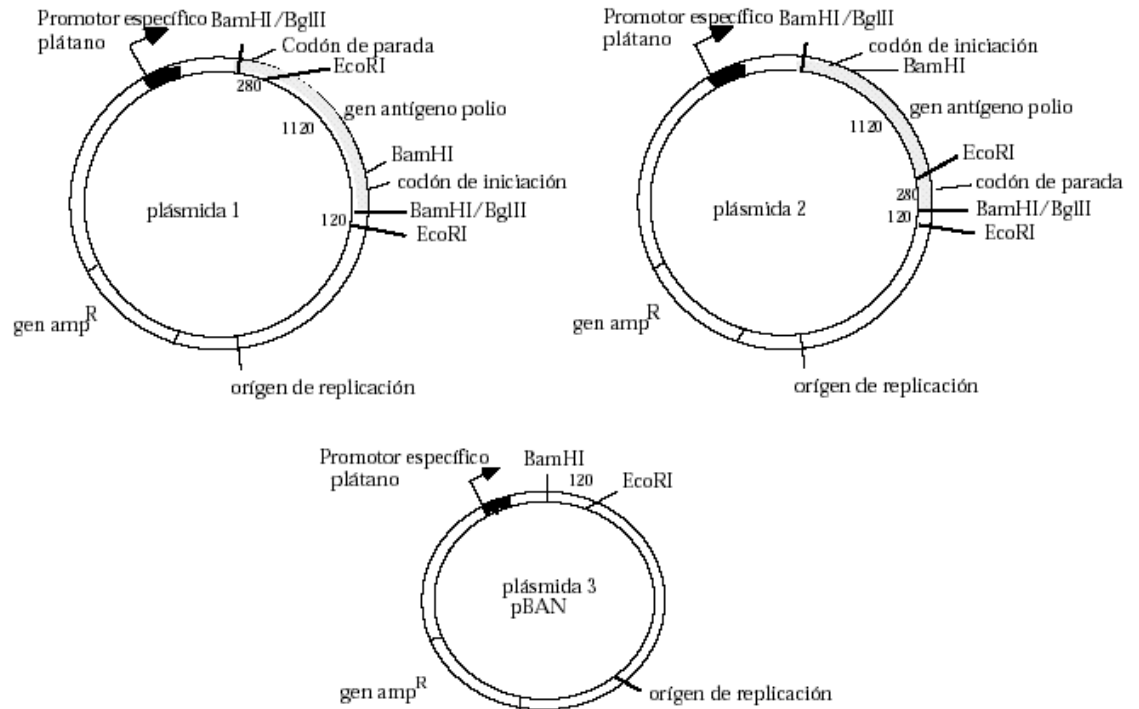
Kanamicina

Ampicilina y kanamicina

Ni ampicilina ni kanamicina

*¿Por qué? El medio sólo debe contener ampicilina porque el plásmido con las secuencias del promotor y de la inserción del plátano contiene un gen resistente a la ampicilina.*

d) Dibuje los plásmidos 1, 2 y 3. Indique todas las características relevantes como el promotor, el origen de la reproducción, los genes resistentes a la ampicilina, el antígeno de la polio, los sitios de restricción y las distancias entre los sitios (expresado en pares de bases).



I) ¿Cuál de las tres plásmidos permitiría la síntesis de la proteína en un plátano? Explique su razonamiento.  
*Sólo el plásmido 2 permitiría la síntesis de la proteína funcional. El antígeno de la polio tiene que estar correctamente orientado con respecto al promotor.*

### Pregunta 3

a)

I) ¿Dónde estaría localizada esta proteína receptora si la célula carece de SRP?  
*La proteína receptora estaría localizada en el citosol. No sería funcional.*

II) ¿Dónde estaría localizada esta proteína receptora si se eliminase su zona de señalización?  
*Estaría insertada en la membrana plasmática, pero no sería funcional sin una zona de señalización.*

III) ¿Qué característica común comparten las cadenas laterales de los aminoácidos encontrados en una zona transmembranal? ¿Por qué?  
*La zona transmembranal está compuesta de aminoácidos con cadenas laterales hidrofóbicas porque el interior de la doble capa lipídica es hidrofóbico.*

IV) ¿Qué zona (**unión con el ligando, transmembrana o señalización**) de la proteína receptora de tipo salvaje se introduce en el lumen del retículo endoplasmático durante la traducción? ¿Por qué la proteína receptora tiene que introducirse de esta forma para ser funcional?

*La zona unida al ligando está situada dentro del lumen del retículo endoplasmático. Cuando se produce la fusión de la vesícula secretora con la membrana plasmática, el interior de retículo endoplasmático se convierte en el exterior de la célula donde la zona unida al ligando debe estar en orden para unirse al ligando.*

b)

I) ¿Cómo explica esta diferencia de longitud?

*Una secuencia de señal de 22 aminoácidos se separa durante la traducción al retículo endoplasmático.*

II) ¿Mostraría esta disparidad una proteína transmembrana?

*Sí. Una proteína transmembrana también posee una señal de secuencia que también se separa durante la traducción al retículo endoplasmático.*

#### Pregunta 4

a) ¿Cómo estimula la molécula unida al odorizante  $\pi$  a la proteína receptora y cómo activa ésta la proteína G?

La unión de una molécula odorizante  $\pi$  a la zona extracelular del receptor cambia la conformación de la proteína. Esto permite que la zona intracelular del receptor se una al heterotrímero de la proteína G. Esta unión hace que la subunidad  $\alpha$  cambie GDP por GTP, activando la subunidad  $\alpha$  y liberándola de la subunidad  $\beta\gamma$ .

b) Aunque podría ser agradable estar oliendo continuamente el pastel, una vez que los odorizantes  $\pi$  desaparecen, la señalización se detiene. ¿Cómo se detiene la vía de señalización? Razone por qué una vez que la proteína G se ha activado, no activa el adenilato ciclasa. ¿Qué reacción química se genera en este proceso?

*La subunidad  $\alpha$  de la proteína G posee una actividad de GTP intrínseca. Esta actividad convierte el límite de GTP con la subunidad  $\alpha$  en GDP. Como GTP es necesario para que la subunidad  $\alpha$  sea activa, la conversión de GTP en GDP se activa la subunidad  $\alpha$  de la proteína G. La subunidad  $\alpha$  inactiva puede reincorporarse a la subunidad  $\beta\gamma$  para esperar otra señal del receptor.*

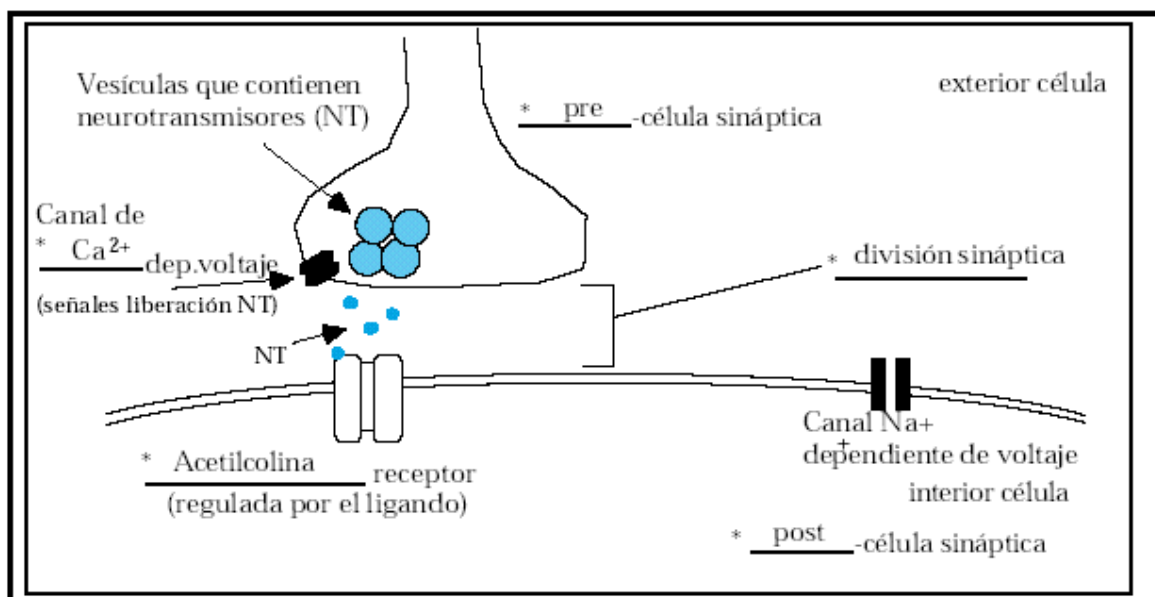
c) Enumere dos ventajas de que haya múltiples pasos en una vía de transducción de señal.  
*Los múltiples pasos en la vía pueden generar una gran amplificación de la señal. Asimismo, permite que existan varios puntos de regulación. Además, si varios receptores diferentes están activos en la misma vía de transducción, es posible la integración de entradas diferentes.*

d) Una molécula de olor de pavo entra en contacto con el receptor odorizante  $\pi$ . ¿Supondría Haría esto que se enviase el estímulo nervioso desde esta célula olfativa? Explique su respuesta.

*No, una molécula de olor de pavo no tendría efecto en el estímulo desde esta célula. El receptor odorizante  $\pi$  reconoce específicamente el odorizante  $\pi$ . Sin embargo, la molécula de olor de pavo afectaría las células olfativas especializadas en el pavo.*

### Pregunta 5

a) Rellene los huecos (\* \_\_\_\_\_) en este esquema de un cruce **neuromuscular**.



b) Describa brevemente qué provoca la liberación de neurotransmisores en esta sinápsis.  
*Un potencial de acción invade el término de la célula presináptica y la despolariza. Los canales  $Ca^{2+}$  regulados por voltaje se abren, permitiendo que el  $Ca^{2+}$  entre en la célula. El  $Ca^{2+}$  provoca la fusión de las vesículas que contienen acetilcolina con la membrana plasmática, liberando NT.*

c) Describa brevemente los acontecimientos que, cuando se ha liberado el neurotransmisor, derivan en una despolarización lo suficientemente grande para causar una contracción muscular.

*La acetilcolina (ACh) se une al receptor causando un cambio en la conformación que permite que el receptor funcione como un canal de  $\text{Na}^+$ . El  $\text{Na}^+$  se mueve dentro de la célula muscular y la despolariza. Si la despolarización es lo suficientemente grande, los canales de  $\text{Na}^+$  regulados por voltaje se abren en la célula muscular provocando una gran despolarización del músculo.*