



90 problemas resueltos de Ingeniería Genética



José Luis Micol Molina



UNIVERSITAS
Miguel Hernández

90 problemas resueltos de Ingeniería Genética

Universidad Miguel Hernández de Elche
Grado en Biotecnología
Cursos 2011-15

José Luis Micol Molina
Catedrático de Genética
Departamento de Biología Aplicada

Índice

Introducción	1
--------------------	---

Problemas del curso 2011-12

Enunciados

Ejemplo 1.- En Pandora existe una gran variedad de seres vivos. Su información genética está contenida en un.....	2
Ejemplo 2.- La tuberculosis es una enfermedad infecciosa, responsable de la muerte de casi 5.000 personas al	2
1.- El genoma del virus imaginario VIL muestra las siguientes relaciones entre bases nitrogenadas: A/T=0,33, G.....	2
2.- El plásmido pROC de <i>Escherichia coli</i> fue purificado y digerido con las endonucleasas <i>AatI</i> , <i>BamHI</i> , <i>CspI</i> y.....	2
3.- Dos enzimas que catalizan la síntesis de ARN a partir de ribonucleósidos trifosfatados se diferencian en su.....	3
4.- En la Tabla 2 se indican los resultados de la caracterización de dos tipos de ácidos nucleicos extraídos de	3
5.- La molécula de ADN bicatenario de la Figura 4 se transcribe y traduce <i>in vivo</i> a un polipéptido de cinco	4
6.- Se diseñan y sintetizan por el método de la fosforamida varios oligonucleótidos (A-J en la Tabla 4) con el	4
7.- Las moléculas de ADN bicatenario que se representan en la Figura 7 tienen grupos fosfato en sus extremos	5
8.- La empresa Promega distribuye el vector plasmídico pGEM-T Easy linearizado (Figura 8), con el propósito de	5
9.- El ADN obtenido en una minipreparación realizada con uno de los transformantes que se seleccionaron en.....	6
10.- La corea de Huntington es un proceso neurodegenerativo letal que presenta herencia monogénica. Dado.....	6
11.- El individuo II-1 de la familia A de la Figura 12 padece fenilketonuria, una enfermedad autosómica recesiva	7
12.- A su regreso de una visita a su familia en Ghana, un niño de 13 años fue detenido en 1983 en el aeropuerto	7
13.- Un investigador pretende identificar un clon en una genoteca genómica suficientemente representativa del.....	8
14.- Con el propósito de caracterizar varios alelos mutantes del gen <i>MAD</i> (<i>mothers against decapentaplegic</i>).....	8
15.- <i>AGO1</i> , el alelo silvestre del gen <i>ARGONAUTE1</i> de <i>Arabidopsis thaliana</i> , fue secuenciado en el laboratorio.....	8
16.- Interpreta el mapa de la Figura 17 explicando la función natural (actividad enzimática del producto génico)	9
17.- Se estudió la presencia de 8.203 STS en 960 clones YAC para generar un mapa físico del genoma del.....	9
18.- Una investigadora del laboratorio de José Luis Micol, en la Unidad de Genética del Instituto de Bioingeniería	9
19.- Las mutaciones de insuficiencia de función en el gen <i>INDY</i> (<i>I'm not dead yet</i>) de <i>Drosophila melanogaster</i>	11
20.- La fibrosis quística es una enfermedad autosómica recesiva, que reduce la esperanza de vida de quienes	12
21.- La huella molecular (<i>genetic fingerprint</i>) tiene entre otros usos el de intentar identificar niños robados	12
22.- Obtén información en internet acerca del vector pGSA1204. Copia y pega el mapa de este vector en 22A.	13
23.- Interpreta el mapa del vector pGen2.1, que aparece en la Figura 23, explicando sucintamente en 23A-23L	13
24.- Varias de las polimerasas termoestables de uso común en Ingeniería Genética rinden productos de.....	13
25.- La borreliosis o enfermedad de Lyme es causada por <i>Borrelia burgdorferi</i> . Es transmitida por garrapatas	13
26.- Un ensayo de qRT-PCR para la determinación en sangre del número de copias de un virus cuyo genoma.....	14
27.- Se construyó una genoteca de ADNc a partir de ARNm de células de hígado de pato (<i>Anas platyrhynchos</i>	14
28.- Durante la realización de su trabajo de fin de grado, se asigna a una alumna de cuarto curso de Biotecnología	14
29.- Investigadores de las universidades de Harvard y Stanford llevaron a cabo varios análisis globales de	15
30.- El gen <i>WYO</i> humano presenta 4 secuencias que parecen ser donantes del <i>splicing</i> , y otras tantas que	16

Hojas de respuestas	18
---------------------------	----

Soluciones	31
------------------	----

Problemas del curso 2012-13

Enunciados

1.- La composición de una molécula monocatenaria de ARN de 10 ⁶ nt de longitud es del 20% en A, 25% en C, 25%.....	44
2.- Se aisló ADN del plásmido pEZY mediante una minipreparación realizada a partir de un cultivo de <i>Escherichia</i>	44
3.- Las moléculas bicatenarias que se representan en la Figura 3 tienen grupos fosfato en sus extremos 5'	45

4.- Se representa en la Figura 4 parte de la secuencia de una de las dos cadenas de una molécula de ADN lineal.	45
5.- Interpreta el mapa del vector que se representa en la Figura 5 explicando la función natural (actividad)	45
6.- Interpreta el mapa del vector que se representa en la Figura 6, explicando sucintamente en 6A-6G la función	45
7.- Se realizaron tres reacciones en tubos separados, en cada una de las cuales se empleó a 37°C ADNpol I de	46
8.- El producto de amplificación por PCR cuya secuencia se recoge en el archivo "Problema8IG2012-13.txt"	46
9.- Se diseñaron y sintetizaron dos oligonucleótidos (UMHa: 5'-ATGTTCTGGTTGCGTGAAC-3' y UMHb.....)	46
10.- El producto del gen <i>cubitus interruptus</i> de <i>Drosophila melanogaster</i> es un factor de transcripción cuya.....	47
11.- El árbol genealógico de la Figura 7 representa un caso de herencia de la hipercolesterolemia familiar, una	47
12.- Se purificó ADN a partir de muestras de sangre de 200 personas, que se digirió individualmente con <i>EcoRI</i>	47
13.- Con el fin de utilizarlos como cebadores en la amplificación por PCR de una molécula de ADN, se diseñaron	48
14.- La secuencia del genoma del cerdo (<i>Sus scrofa domestica</i>), cuyo tamaño es 2,7 Gb, ha sido publicada	48
15.- Indica las diferencias estructurales entre una molécula monocatenaria de ADN natural y un oligonucleótido	48
16.- La secuencia de la Figura 9 fue obtenida en el laboratorio de José Luis Micol durante el verano de 2012.....	48
17.- En la Figura 10 se representa parte de la secuencia del gen <i>ICU2 (INCURVATA2)</i> de <i>Arabidopsis thaliana</i>	49
18.- Utiliza la información que puedas encontrar en internet, particularmente en YouTube, para responder.....	49
19.- Explica sucintamente en 19A-19I qué has aprendido durante la resolución y discusión de los problemas	49
20.- Explica sucintamente en 20A-20I qué has aprendido durante la resolución y discusión de los problemas	49

Hojas de respuestas	50
----------------------------------	----

Soluciones	61
-------------------------	----

Problemas del curso 2013-14

Enunciados

1.- Se ha descubierto una bacteria que solo utiliza un codón de terminación: UGA. Empleando el código genético	72
2.- El plásmido pALIO de <i>Escherichia coli</i> fue purificado y sometido a digestiones simples y dobles con cuatro.....	72
3.- Se obtuvieron disoluciones de gran pureza de (1) ADN monocatenario circular, (2) ADN monocatenario lineal	73
4.- Las moléculas de ADN bicatenario que se representan en la Figura 3 tienen grupos fosfato en sus extremos 5'	74
5.- Interpreta la Figura 4 explicando la función natural (actividad enzimática del producto génico; en 5A, 5C y 5E)	74
6.- Empleando la información que proporcionan las Figuras 4 y 5, explica qué consecuencias tiene la digestión.....	74
7.- Se dispone de los vectores pBR322, pUC18 y pGEM-3Z para llevar a cabo cinco experimentos de clonación.....	75
8.- Con el propósito de clonar y posteriormente subclonar el gen de la tiroperoxidasa humana (TPO), se procedió.....	75
9.- Se han desarrollado varios métodos de modificación de moléculas de ADN basados en la recombinación.....	75
10.- Se obtuvieron ratones <i>knockout</i> mediante la tecnología Cre-lox, con el fin de estudiar los efectos de la.....	77
11.- Empleando el código genético de la Tabla 1, diseña dos oligonucleótidos degenerados con los que se pueda	77
12.- Se representa en la Figura 12 la segregación de una enfermedad hereditaria muy rara. También se muestra.....	78
13.- El árbol genealógico de la Figura 15 representa la segregación de una enfermedad autosómica recesiva.	79
14.- <i>SHY</i> , un gen del cromosoma X, causa una enfermedad dominante que se manifiesta con anticipación	79
15.- Se espera que nuestro planeta esté poblado por unas 10 ¹⁰ personas antes de que finalice el siglo.....	80
16.- La fibrosis quística es una enfermedad autosómica recesiva causada por los alelos mutantes del gen de la.....	80
17.- Existen muchas páginas web que contienen programas de dominio público que permiten el análisis y la	81
18.- Se diseñaron cuatro oligonucleótidos para amplificar mediante PCR un gen viral: 5'-ACGTGTGCACAGTAGCA	81
19.- Las lecturas que realiza un secuenciador masivo deben ser alineadas con la secuencia de un genoma de.....	82
20.- Busca en YouTube, DNATUBE y otros sitios web un vídeo de más de 1 minuto y menos de 5, en el que se	83

Hojas de respuestas	84
----------------------------------	----

Soluciones	96
-------------------------	----

Problemas del curso 2014-15

Enunciados

1.- Empleando el código genético de la Tabla 1, define en 1A la secuencia de un péptido, al que llamaremos PEP	108
--	-----

2.- El plásmido pIBE de <i>Escherichia coli</i> fue purificado y sometido a digestiones simples y dobles con las	108
3.- La miostatina es una proteína producida por el gen <i>MSTN</i> que limita el crecimiento muscular en muchos	109
4.- Se han obtenido recientemente dos nucleótidos sintéticos distintos de los naturales se ha demostrado	109
5.- Se realizaron varios experimentos de clonación a fin de estudiar y eventualmente manipular el gen	109
6.- Una vez enmendados los errores de la Tabla 2, y tras la correcta incorporación de un inserto de 5.320 pb.....	109
7.- La Figura 3 representa una colección de vectores diseñados con el propósito de obtener construcciones	110
8.- Explica los procesos que se representan en las filas 4-6 (en 8A) y 9-13 (en 8B) de la Figura 3, y qué finalidad	110
9.- El vector Puro-TV fue diseñado para la eliminación dirigida del locus <i>mir-290~295</i> en ratones transgénicos.....	110
10.- Indica en 10A cuál es la denominación del sistema de recombinación más común, en qué tipo de	111
11.- Muchas proteínas presentan dominios con una organización modular que es el resultado de fusiones de.....	112
12.- Busca en internet una imagen en la que se detalle la estructura del promotor pTRE3G que se menciona en	113
13.- Explica en 13A cómo se obtuvo y para qué sirve la molécula que aparece en la parte inferior de la Figura 6.....	113
14.- Busca en internet y pega en 14A una imagen que ilustre los fundamentos de la técnica denominada	113
15.- Interpreta en 15A la Figura 9a. Indica en 15B a qué técnica corresponden los electroferogramas.	113
16.- En la Figura 10a se muestran los resultados de cinco análisis de micromatrices, en los que se estudiaron	113
17.- El árbol genealógico de la Figura 12 representa la transmisión, en varias familias presuntamente no	116
18.- Las tecnologías de secuenciación masiva de Illumina (HiSeq), Life Technologies (Ion Proton), Roche (454)	116
19.- La Sequence Manipulation Suite (SMS; http://www.bioinformatics.org/sms2/) incluye programas de	117
20.- El árbol genealógico de la Figura 14a representa la transmisión de una enfermedad hereditaria que se	117
Hojas de respuestas	118
Soluciones	128
Origen de los problemas.....	138
Curso 2011-12.....	138
Curso 2012-13.....	138
Curso 2013-14.....	138
Curso 2014-15	139
Distribución de las calificaciones de las series	140
Texto de los archivos complementarios.....	141
Currículum resumido del autor	145

Introducción

Este libro de problemas recoge los que he propuesto de 2011 a 2015 a mis alumnos de la asignatura de *Ingeniería Genética*, de segundo curso del Grado en Biotecnología de la Universidad Miguel Hernández de Elche (en adelante, UMH). Dado que existen muy pocos libros de problemas de Ingeniería Genética, publico este esperando que sea de utilidad tanto para estudiantes como para profesores.

Los problemas de este libro son muy diversos: los hay con enunciados breves o muy extensos; que se relacionan de manera directa con lo expuesto por el profesor en clase de teoría o que obligan a descubrir conceptos; complejos o aparente y realmente triviales; y basados en problemas preexistentes, en mis propias ideas o en artículos científicos. Indico en la página 108 el origen de todos los problemas que no son íntegramente míos.

Publiqué los enunciados de estos problemas en la página web de mi asignatura, agrupados en diez series, cada una de ellas de tres problemas en 2011 y de dos en los años siguientes. La publicación se hizo secuencialmente a lo largo del cuatrimestre, siempre después de la impartición de la parte correspondiente del temario. Cada serie se discutió en horas de clase destinadas a prácticas de aula, unas dos semanas después de la publicación de los enunciados. Los alumnos fueron informados de que algunos problemas requerían para su resolución recursos bioinformáticos de dominio público y que en todos los casos era necesario consultar el material entregado o recomendado por el profesor durante la impartición de las clases de teoría, y conveniente realizar búsquedas en internet.

Los enunciados de los problemas se publicaron junto con las correspondientes hojas de respuestas: formularios electrónicos en formato pdf, con campos que admitían texto con un tipo de letra predeterminado y un número de líneas y caracteres limitado; algunos campos permitían incorporar imágenes. Los alumnos podían remitirme para su evaluación hojas de respuestas rellenas solo si estaban dispuestos a exponer en el aula, ante mí y sus compañeros, la forma en que habían resuelto los problemas. A las hojas de respuestas rellenas debían adjuntarse diapositivas que las explicaran. Para cada clase de problemas elegí a al menos un alumno por problema, que con la ayuda de sus propias diapositivas expuso cómo había resuelto los problemas y contestó a cuantas preguntas al respecto le formularon sus compañeros.

La evaluación continua mediante resolución de problemas asociada a la entrega de hojas de respuestas para su defensa pública fue instaurada en la Universidad de Sevilla en la década de los 70 por [Enrique Cerdá Olmedo](#). Uno de sus discípulos —Francisco Murillo Araujo, mi director de tesis— la puso en marcha en 1980 en la Universidad de Murcia; allí comencé a usarla durante la realización de mi tesis doctoral. Este método es en mi opinión muy útil para los alumnos, que habitualmente discuten mucho entre ellos cada respuesta antes de remitirla al profesor, adoptando así una actitud activa que les ayuda a identificar y comprender las claves de cada problema. Aunque es inevitable que algunos estudiantes se limiten a copiar las respuestas de sus compañeros, son muchos más los que se lo toman en serio e intentan encontrarlas por sí mismos, individualmente o en grupo, y obtienen de ello el beneficio de aprender, que es mucho mayor que el derivado de los escasos puntos que les concede el profesor por cada solución correcta. Implementé este sistema en la Universidad de Alicante en 1991, y en la UMH en 1997, en este último caso a la vez que algunos de mis antiguos colaboradores, que ya eran profesores.

En los cursos 2013-14 y 2014-15 elaboré diapositivas que informaban a mis alumnos de la evolución de las calificaciones de las series, indicaban los errores más llamativos que algunos de ellos habían cometido en sus hojas de respuestas y explicaban mediante animaciones cómo resolver algunos problemas. También incluí en estas presentaciones complementarias las diapositivas previamente proyectadas en las clases de teoría que contenían la información más relevante para la resolución de cada problema. La página 141 contiene enlaces a estas presentaciones.

Mi asignatura tiene [un blog](#) institucional y [una cuenta en Twitter](#), en los que escribo de septiembre a febrero. Dedico ocasionalmente atención a mi blog personal "[Genética cotidiana](#)".

Problemas

Ejemplo 1.- En Pandora existe una gran variedad de seres vivos. Su información genética está contenida en un ADN bicatenario en el que se forman puentes de hidrógeno entre el ácido barbitúrico y la 2,6-diaminopurina, que forman parte de los únicos dos desoxirribósidos de Pandora (Figura 1).

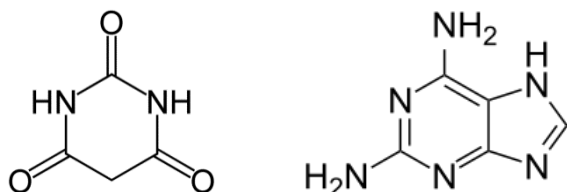


Figura 2.- Fórmulas del ácido barbitúrico (izquierda) y la 2,6-aminopurina (derecha).

Indica en E1A si la variabilidad de las temperaturas de fusión del ADN pandoresco debe ser mayor, menor o igual que la del ADN terrestre; en E1B, cuántas secuencias de nucleótidos distintas podrían formarse con un segmento de ADN pandoresco de 100 pb; y en E1C, el número de puentes de hidrógeno que crees que se establecerán en el ADN pandoresco entre las dos moléculas de la Figura 1.

Ejemplo 2.- La tuberculosis es una enfermedad infecciosa, responsable de la muerte de casi 5.000 personas al día en nuestro planeta, la mayoría de ellos jóvenes y de países en desarrollo. Indica en E2A cuál será el peso, en gramos, y la longitud total, en metros, de la molécula de ADN bicatenario que constituye el cromosoma de *Mycobacterium tuberculosis*, el agente causal de la tuberculosis, asumiendo que su tamaño es 4,4 Mb y que tiene un contenido en G+C del 65,6%. Haz otro tanto en E2B en relación al genoma nuclear de *Arabidopsis thaliana*, de 125 Mb y un contenido en G+C del 36%. Indica en E2C el número máximo de proteínas que podría codificar el cromosoma de *Mycobacterium tuberculosis* y en E2D el de *Arabidopsis thaliana*, asumiendo en ambos casos una media de 400 aminoácidos por proteína, y que las regiones no codificantes suponen un 30% de ambos genomas. Consúltense los datos físicos y químicos del ADN que se estimen necesarios.

1.- El genoma del virus imaginario VIL muestra las siguientes relaciones entre bases nitrogenadas: A/T=0,33, G/C=2 y A+T/G+C=1,33. Indica en 1A qué tipo de molécula constituye el material genético del virus; en 1B, el valor de la relación purinas/pirimidinas en dicha molécula; en 1C, las proporciones relativas para cada una de las bases en una molécula complementaria de ARN obtenida empleando como molde la que constituye el genoma del virus; y en 1D, las proporciones de bases en la molécula híbrida.

El cromosoma de *Escherichia coli* es una molécula de ADN bicatenario circular de 4,6 Mb. Indica en 1E cuáles de las siguientes composiciones del ADN de *Escherichia coli* son imposibles: (a) solo A; (b) solo A y T; (c) solo C y T; (d) solo A y G; (e) solo A, G y T; (f) 90% de A+C+G y 10% de T; (g) 40% de A+C+T y 60% de G.

El plásmido pDAZO de *Escherichia coli*, de 5,4 kb, es purificado y digerido con *EcoRI*. Se obtiene así un único fragmento de restricción, de 5,4 kb, que es sometido a una segunda digestión. Indica en 1F el número de dianas de *EcoRI* en pDAZO, y en 1G, cuántas esperarías que tuviese si su secuencia se hubiera obtenido al azar. Escribe en 1H qué enzima se ha empleado para la segunda digestión si sus productos finales son mononucleótidos y oligonucleótidos con un fosfato en 5'. Haz otro tanto en 1I si el producto final es una molécula de 3 kb con extremos romos.

2.- El plásmido pROC de *Escherichia coli* fue purificado y digerido con las endonucleasas *AatI*, *BamHI*, *CspI* y *DraIII*, en digestiones simples y dobles, con el fin de llevar a cabo su cartografía de restricción. Los fragmentos de restricción fueron sometidos a electroforesis en un gel del 1,5% en agarosa teñido con bromuro de etidio, empleando 1 kb DNA Ladder de Invitrogen como marcador de peso molecular (Figura 2). Las bandas así obtenidas se visualizaron y fotografiaron en un documentador de geles con el resultado que muestra la Figura 3, en la que las enzimas se representan por su inicial, y M indica marcador de peso molecular. Dibuja en 2A un mapa de restricción de pROC (circular), indicando en kb las distancias entre las dianas de las restrictasas. No se requiere en este problema una precisión superior a 0,5 kb.

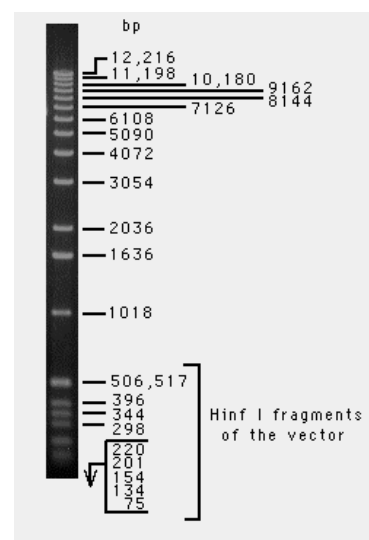
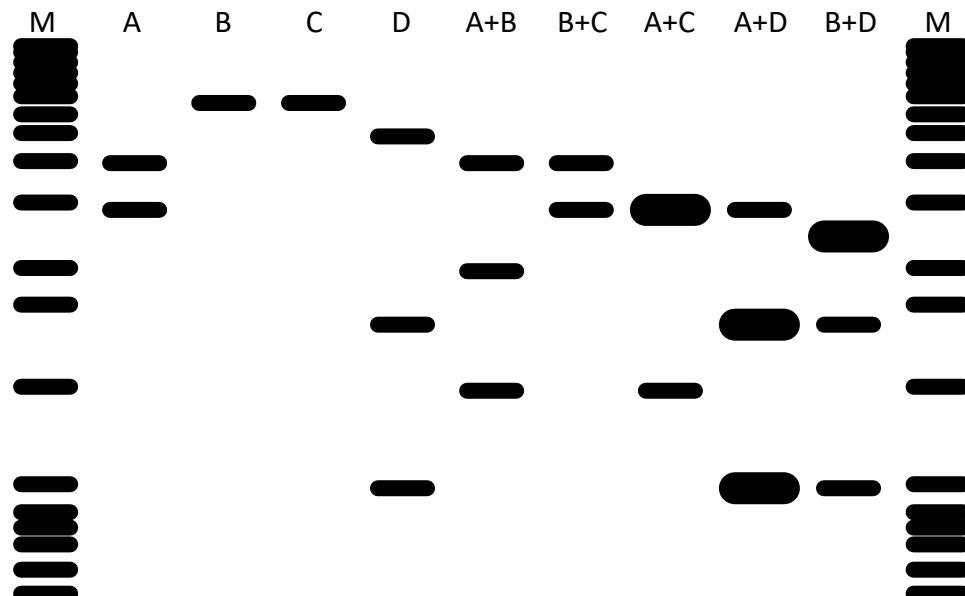


Figura 2.- Tamaño (en pb) de las moléculas del marcador de peso molecular 1 kb DNA Ladder de Invitrogen.

Figura 3.- Visualización de los fragmentos de restricción de pROC obtenidos tras su digestión con las enzimas *AatI* (A), *BamHI* (B), *CspI* (C) y *DraIII* (D). M: marcador de peso molecular.



3.- Dos enzimas que catalizan la síntesis de ARN a partir de ribonucleósidos trifosfatados se diferencian en su modo de acción, tal como se desprende de los datos de la Tabla 1. En esta tabla se muestran los resultados de diversos experimentos en los que las enzimas se incubaron por separado con una mezcla equimolecular de cuatro ribonucleósidos trifosfatados (A, G, C y U), en ausencia o presencia de ADN bicatenario extraído de dos organismos distintos, X e Y. El contenido en G+C del ADN de X es del 30%, y el de Y, del 70%. La Tabla 1 indica el tipo de ADN con el que se realizó cada experimento, si hubo (+) o no (-) síntesis apreciable de ARN, y en su caso, la composición de este último, en porcentaje.

Tabla 1

Experimento	Enzima presente	Tipo de ADN presente	Síntesis de ARN	Composición del ARN (%)			
				A	G	C	U
1	enz.1	ninguno	-	-	-	-	-
2	enz.1	X	+	34,8	14,7	15,3	35,2
3	enz.1	Y	+	14,9	35,1	34,9	15,1
4	enz.2	ninguno	+	24,6	25,3	24,9	25,2
5	enz.2	X	+	25,3	24,6	25,2	24,9
6	enz.2	Y	+	25,2	24,9	25,3	24,6

En experimentos de hibridación se comprobó que el ARN del experimento 2 hibrida al 100% con ADN de X previamente disociado por calentamiento, pero no lo hace con ADN de Y. El ARN del experimento 3 hibrida al 100% con ADN de Y, pero no con el de X. Los ARN de los experimentos 4, 5 y 6 no hibridan ni con ADN de X ni con el de Y. Para cada una de las dos enzimas propón en 3A una hipótesis que explique su modo de acción. Indica en 3B un experimento que permita confirmar tu hipótesis sobre el modo de acción de la enzima 2.

4.- En la Tabla 2 se indican los resultados de la caracterización de dos tipos de ácidos nucleicos extraídos de los bacteriófagos X e Y. Se dan los contenidos en tres de las bases, la sensibilidad a dos ribonucleasas y dos desoxirribonucleasas distintas, y absorbancia a 260 nm (A_{260}) de muestras de ácido nucleico antes y después de calentarlas a 100°C durante 15 minutos. El signo + indica que el ácido nucleico es degradado por la nucleasa correspondiente, y el signo -, que no es degradado. Indica en 4A y 4B la naturaleza molecular de los ácidos nucleicos de los fagos X e Y, respectivamente, con el mayor detalle que permitan los datos. Propón en 4C una explicación breve al hecho de que la desoxirribonucleasa 2 no actúe sobre el ácido nucleico Y.

Tabla 2

Fago	Contenido en bases (%)			Sensibilidad a DNasas		Sensibilidad a RNasas		A_{260}	
	A	G	C	1	2	1	2	En frío	En caliente
X	40	16	15	-	-	-	+	1,23	1,25
Y	28	22	21	+	-	-	-	1,19	1,56

5.- La molécula de ADN bicatenario de la Figura 4 se transcribe y traduce *in vivo* a un polipéptido de cinco aminoácidos. Indica en 5A los extremos 5' y 3' de cada cadena, cuál de ellas se transcribe y en qué dirección (dibuja una flecha), y cuáles son los codones de iniciación y terminación de la traducción.

...TACATGATCATTTTCACGGAATTTCTAGCATGTA...
...ATGTACTAGTAAAGTGCCTTAAAGATCGTACAT...

Figura 4

Dos alelos mutantes del gen de la subunidad α de la hemoglobina (Hb) son la causa de las variantes HbW1 y HbCS, en las que la longitud de la globina α es mayor que en la HbA silvestre, tal como se muestra en la Figura 5.

Residuo	141	146
HbA	...ser-lys-tyr-arg-COOH	
HbW1	...ser-asn-thr-val-lys-leu-glu-pro-arg-COOH	
HbCS	...ser-lys-tyr-arg-gln-ala-gly-ala-ser-val-ala...	

Figura 5.- Alineamiento parcial de la HbA y dos de sus variantes.

Tabla 3	
Código	Base
A	Adenina
C	Citosina
G	Guanina
T (o U)	Timina (o Uracilo)
R	A o G
Y	C o T
S	G o C
W	A o T
K	G o T
M	A o C
B	C, G o T
D	A, G o T
H	A, C o T
V	A, C o G
N	Cualquier base
. o -	Espacio

Utilizando los códigos de la International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC) que se muestran en la Tabla 3, indica en 5B la secuencia nucleotídica de la región del gen de la subunidad α de la Hb que codifica las secuencias peptídicas de la Figura 5, y en 5C qué mutaciones puntuales (deleción o sustitución de solo un nucleótido) han dado lugar a las variantes HbW1 y HbCS.

La inserción de un nucleótido y la deleción de otro a cierta distancia en el gen *Shh* (*Sonic hedgehog*) humano provoca el cambio de H₂N...-lys-ser-pro-ser-leu-asn-ala-ala-lys-...-COOH por H₂N...-lys-val-his-his-leu-met-ala-ala-lys-...-COOH en la secuencia de la proteína SHH. Utilizando los códigos de la Tabla 3 indica en 5D cuál es la secuencia de la parte del ARN mensajero silvestre de *Shh* que codifica estos aminoácidos; en 5E, la de su alelo mutante; en 5F, qué nucleótido se ha insertado; y en 5G, cuál se ha delecionado.

6.- Se diseñan y sintetizan por el método de la fosforamidita varios oligonucleótidos (A-J en la Tabla 4) con el propósito de utilizarlos como cebadores en amplificaciones por PCR, cuyas secuencias son en todos los casos perfectamente complementarias a las de genes del nematodo *Caenorhabditis elegans*. Indica en 6A a 6J sus respectivas temperaturas de fusión (T_m); en 6K y 6L, cuántas veces esperarías encontrar una secuencia perfectamente complementaria a la de los oligonucleótidos A y E, respectivamente, en el genoma de *Caenorhabditis elegans*, cuyo tamaño es 100 Mb.

Se obtiene ADN genómico de este nematodo para utilizarlo como molde en amplificaciones de PCR en un termociclador con el siguiente programa: 94°C, 30 s; 35 × (94°C, 30 s; 60°C, 20 s; 72°C, 1 min); 72°C, 5 min; 4°C, ∞. Los productos de las amplificaciones son visualizados mediante electroforesis en un gel del 1,5% en agarosa teñido con bromuro de etidio (Figura 6).

Formula en 6M a 6P hipótesis breves que expliquen los resultados obtenidos en las calles 2 a 6 del gel, respectivamente.

Tabla 4.- Oligonucleótidos empleados en las amplificaciones descritas en el problema 6

	Secuencia del oligonucleótido (5'→3')
A	ATACAATACAATACAATACA
B	AGATAAGATAAGATAAGATA
C	CGTGAGCTAGATAGCTCACG
D	GGCTGCGCGAAGCCAGTTTT
E	AGCTCTGAGCTAGGGGCATG
F	TTATACCTGTAATCCTGCGG
G	TTCGTGATATCTCTCACACT
H	AGTACAGCGCCGTGGGGATC
I	GGAATTCGCTCGCACATGT
J	GGTGATATTTTGCACATGTGC

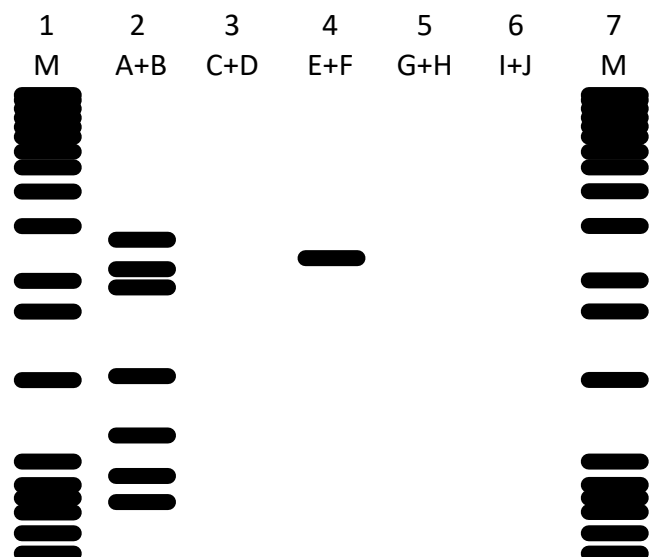


Figura 6.- Visualización de los productos de las amplificaciones descritas en el problema 6. M: Marcador de peso molecular (véase la Figura 2).

7.- Las moléculas de ADN bicatenario que se representan en la Figura 7 tienen grupos fosfato en sus extremos 5', e hidroxilos en los 3'. Indica qué enzimas emplearías y en qué orden, y en su caso, qué sustratos adicionales, para convertir en romos los extremos sobresalientes de la molécula A, sin acortarla (en 7A), para marcar radiativamente los extremos 5' de B (en 7B), para incorporar dianas de *Bam*HI a los extremos de B (en 7C), para incorporar dianas *Pst*I a los extremos de C (en 7D), para impedir que C circularice en presencia de la ligasa de *Escherichia coli* (en 7E), para circularizar D (en 7F), para marcar radiativamente la mayor parte posible de E (en 7G), y para circularizar F de la manera más efectiva posible (en 7H). Las circularizaciones a las que se hace referencia en este problema ocurren *in vitro* y dan lugar a moléculas circulares covalentemente cerradas.

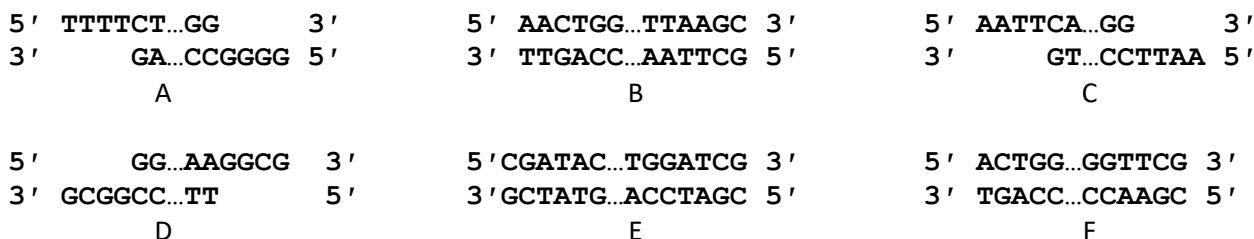


Figura 7

8.- La empresa Promega distribuye el vector plasmídico pGEM-T Easy linearizado (Figura 8), con el propósito de que facilite la clonación de productos de PCR con una A sobresaliente en sus extremos 3'. Indica en 8A qué tipo de enzimas y qué actividad enzimática son responsables de la presencia de estas colas A en 3'. Indica en 8B y 8C si los productos de PCR tienen un grupo hidroxilo o fosfato en 3' y en 5', respectivamente.

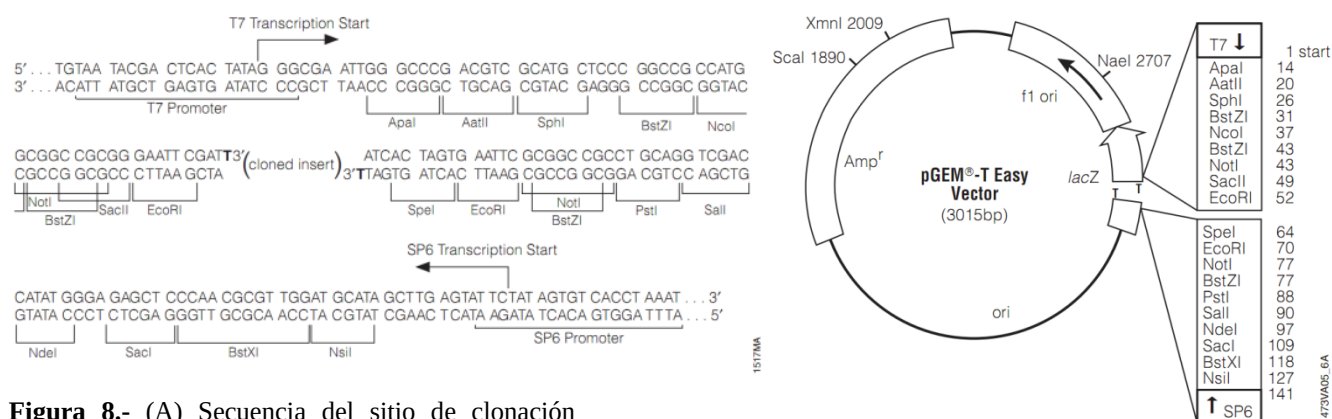


Figura 8.- (A) Secuencia del sitio de clonación múltiple del vector pGEM-T Easy. La polimerasa de ARN de T7 utiliza como molde la cadena de abajo de las dos que se representan, y la de SP6, la de arriba. (B) Mapa de pGEM-T Easy.

El producto de PCR de 2.452 pb que se muestra en la calle 4 del gel de la Figura 6 fue purificado y mezclado con pGEM-T Easy en presencia de la ligasa de T4. Esta mezcla de ligación se utilizó después para transformar células electrocompetentes de la estirpe JM109 de *Escherichia coli*. El genotipo de JM109 es *recA1*, *endA1*, *gyrA96*, *thi*, *hsdR17* (rK-, mK+), *relA1*, *supE44*, *lacZΔM15*.

Para seleccionar colonias transformantes, se realizó a continuación un cultivo en medio suplementado con IPTG, X-Gal y ampicilina. Explica en 8D la génesis de las numerosas colonias blancas que se obtuvieron. Indica en 8E alguna ligación de uso común en Ingeniería Genética en la que se aproveche un fenómeno análogo al que da lugar a estas colonias blancas. Dado que también se obtuvieron algunas colonias azules, formula en 8F una hipótesis que explique su aparición.

pGEM-T Easy Vector sequence reference points:

T7 RNA polymerase transcription initiation site	1
multiple cloning region	10-128
SP6 RNA polymerase promoter (-17 to +3)	139-158
SP6 RNA polymerase transcription initiation site	141
pUC/M13 Reverse Sequencing Primer binding site	176-197
<i>lacZ</i> start codon	180
<i>lac</i> operator	200-216
β-lactamase coding region	1337-2197
phage f1 region	2380-2835
<i>lac</i> operon sequences	2836-2996, 166-395
pUC/M13 Forward Sequencing Primer binding site	2949-2972
T7 RNA polymerase promoter (-17 to +3)	2999-3

9.- El ADN obtenido en una minipreparación realizada con uno de los transformantes que se seleccionaron en el experimento que se describe en el problema 8 mostró una A_{260} de 0,8. Indica su concentración en 9A, empleando las unidades que correspondan. Dicho ADN plasmídico fue sometido a electroforesis en un gel de agarosa al 1,5%, con los resultados que se muestran en la Figura 9. Explica en 9B a qué corresponde cada una de las bandas de la calle 2.

El ADN de la minipreparación se alicuotó y fue sometido a digestiones independientes con las endonucleasas de restricción *SphI* y *BstZI*. Empleando para ello la información que se proporciona en la Figura 8, justifica en 9C las diferencias entre los productos de estas dos digestiones, que se manifiestan en las calles 3 y 4 del gel de la Figura 9. Indica en 9D la longitud, en pares de bases, del fragmento de restricción más grande de los que aparecen en la calle 4 del gel de la Figura 9.

Otra alícuota del ADN plasmídico se usó para sintetizar *in vitro* una ribosonda con la polimerasa de ARN del fago T7. Indica en 9E siete restrictasas que pueden emplearse por separado para digerir la construcción a fin de que la ribosonda tenga una longitud cercana a 2,5 kb. Escribe en 9F la secuencia de las 61 primeras bases del extremo 5' de la ribosonda. Se obtuvo también una sonda mediante PCR, empleando como molde el mismo ADN plasmídico, una mezcla de nucleótidos que contenía dATP (25%), dCTP (25%), dGTP (25%), dTTP (16,7%) y digoxigenina-11-dUTP (8,3%), y los cebadores 5'-TGTAATACGACTCACTATAGGG-3' y 5'-ATTAGGTGACACTATAGAAT-3'. Explica en 9G a qué se debe la diferencia de tamaño que muestra la sonda obtenida mediante PCR (calle 6 del gel) y la molécula de control (calle 5). Esta última fue obtenida en idénticas condiciones que la sonda salvo que la mezcla de nucleótidos contenía un 25% de dTTP y no incluía digoxigenina-11-dUTP. Explica en 9H a qué se debe la diferencia entre los tamaños de la molécula de la calle 5 (Control) y la más pequeña de las dos que se observan en la calle 4 (*BstZI*) del gel.

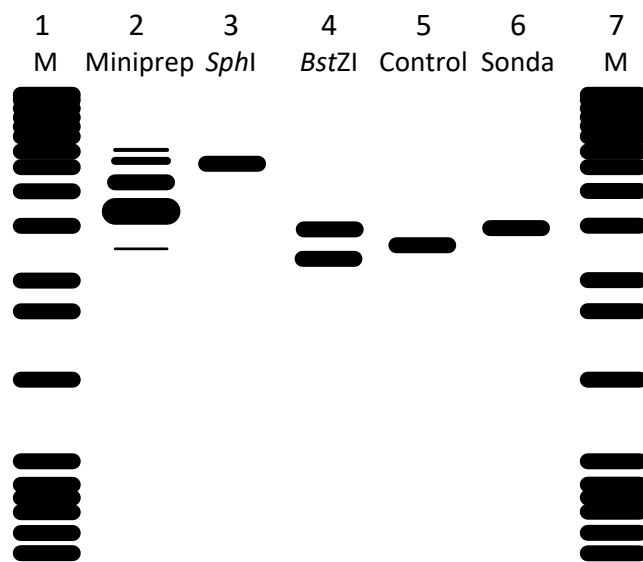


Figura 9.- Visualización de las moléculas descritas en el problema 9. M: Marcador de peso molecular (véase la Figura 2).

10.- La corea de Huntington es un proceso neurodegenerativo letal que presenta herencia monogénica. Dado que los síntomas característicos de la enfermedad se manifiestan usualmente en la tercera, cuarta o quinta década de vida, muchos de los afectados mueren después de haber dejado descendencia y de haber podido transmitir, en consecuencia, el alelo causante de la enfermedad. El diagnóstico de la enfermedad previo a la aparición de sus síntomas no fue posible hasta la década de los ochenta, cuando un grupo de investigadores efectuó una búsqueda de clones de ADN genómico humano que, utilizados como sondas, revelaron polimorfismos en la longitud de fragmentos de restricción (RFLP) ligados al gen de la corea de Huntington. De uno de tales clones, denominado G8, pudo obtenerse una sonda que hibrida con una región del genoma humano en la que se han detectado cuatro patrones de restricción diferentes para la enzima *HindIII*. La región homóloga a la sonda G8 y los patrones de restricción mediante *HindIII* de cada una de sus cuatro variantes polimórficas presentes en la población son los representados en la Figura 10.

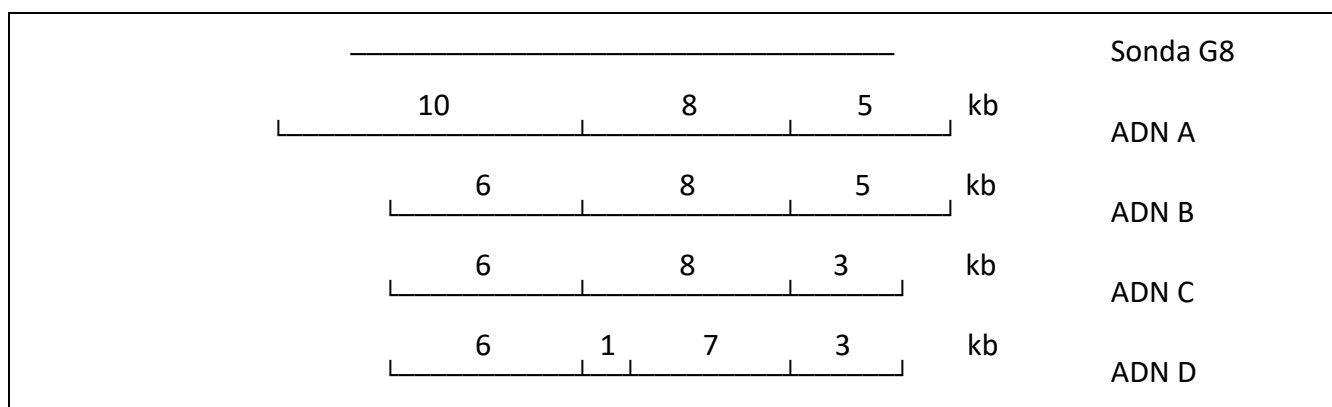


Figura 10.- Patrones de restricción de cuatro variantes polimórficas en el ADN humano, detectables mediante hibridación con la sonda G8. Las líneas verticales indican puntos de corte (dianas) de la enzima de restricción *HindIII*.

Muestras de ADN genómico de diferentes individuos fueron (1) digeridas con *Hind*III, (2) sometidas a electroforesis en geles de agarosa, (3) transferidas a papel de nitrocelulosa, e (4) hibridadas con la sonda G8 marcada radiativamente. Dibuja en 10A las bandas que se visualizarán mediante autorradiografía en individuos de los genotipos indicados (AA, BB, etc.).

Dos diferentes familias, una venezolana y la otra estadounidense, en las que la corea de Huntington ha aparecido en varias generaciones sucesivas, fueron estudiadas para establecer la eventual cosegregación de cada uno de los cuatro RFLP antes descritos y el alelo causante de la enfermedad. Los resultados se muestran en la Figura 11. Los símbolos de color negro destacan a los enfermos de la corea de Huntington, y las barras diagonales indican muertes anteriores al comienzo del estudio.

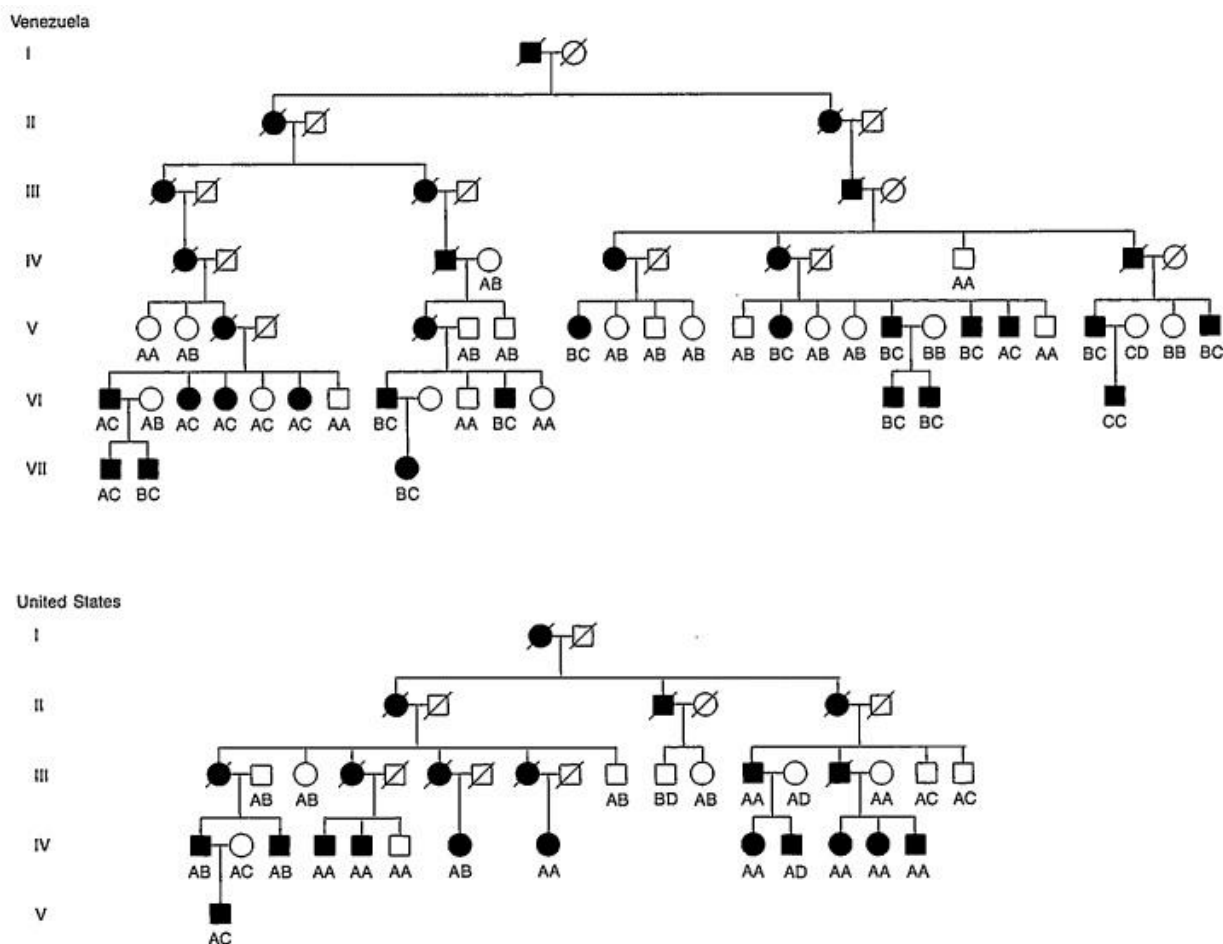


Figura 11

Debajo de cada individuo se muestra, en los casos en que fue posible, su genotipo, deducido de la autorradiografía obtenida tras hibridar con la sonda G8 su ADN, previamente digerido con *Hind*III. ¿Existe ligamiento en la familia venezolana entre el alelo causante de la enfermedad y alguno de los cuatro RFLP? Responde "Sí" o "No" en 10B. Si tu respuesta es sí, indica A, B, C o D en 10C. Actúa de igual modo con respecto a la familia estadounidense en 10D y 10E. ¿Existe alguna excepción a tus respuestas en los cuatro apartados anteriores? Responde en 10F, formulando sucintamente, en su caso, una hipótesis que lo justifique.

11.- El individuo II-1 de la familia A de la Figura 12 padece fenilcetonuria, una enfermedad autosómica recesiva. El estudio de un RFLP ligado al locus de esta enfermedad conduce a los resultados que se representan bajo el árbol genealógico. Indica en 11A toda la información que puedas obtener sobre el genotipo del individuo II-4, justificando tus afirmaciones.

Los individuos de la familia B de la Figura 12 representados en negro padecen una enfermedad autosómica dominante que se

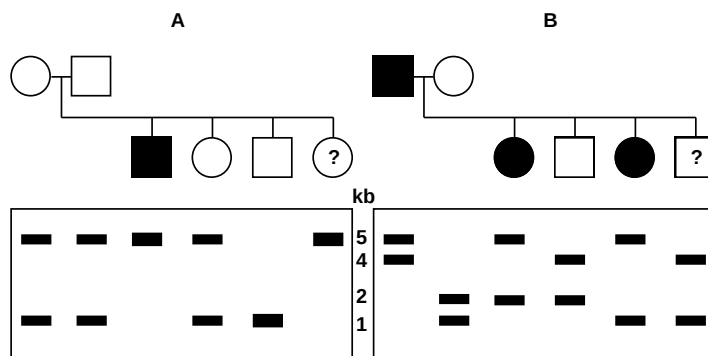
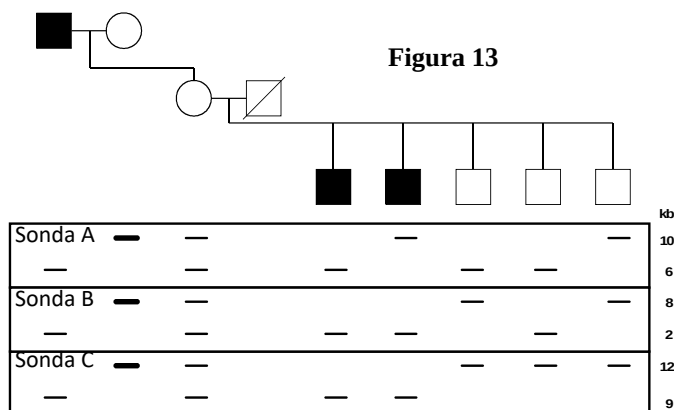


Figura 12

manifiesta a partir de la tercera década de vida. El esquema que aparece bajo el árbol genealógico representa el resultado de un análisis de VNTR para un marcador ligado al locus de la enfermedad. Formula en 11B una predicción motivada acerca de si el individuo II-4 manifestará la enfermedad.



El árbol genealógico de la Figura 13 representa la transmisión de una enfermedad recesiva ligada al cromosoma X. Se ensayan tres diferentes sondas, complementarias a secuencias de la región del cromosoma X en la que se cree que se ubica el gen cuyas mutaciones causan la enfermedad. Las autorradiografías obtenidas se representan en la parte inferior de la Figura 13. Explica en 11C cuál de las tres sondas es útil para detectar un polimorfismo molecular ligado al gen a estudio.

Un hermano de la mujer I-1 del árbol genealógico de la Figura 14 murió de una enfermedad recesiva ligada al sexo que se manifiesta con penetrancia completa a partir de los cuarenta años de edad. El individuo III-2 del árbol, de 42 años, ha comenzado a acusar los síntomas de la enfermedad. La mujer II-2 del árbol ha tenido cuatro hijos de su primer marido (II-1) y dos del segundo (II-3). La enfermedad que padece el individuo III-2 no se ha presentado nunca entre los miembros de las familias de las que proceden II-1 y II-3.

La Figura 14 representa también el resultado de un análisis de RFLP, en el que se ha empleado una sonda de 2 kb que hibrida con la región del cromosoma X que contiene el gen cuyas mutaciones causan la enfermedad.

Justifica en 11D si consideras probable que III-3, hermano menor de III-2, padezca la enfermedad cuando supere los cuarenta años de edad. Justifica en 11E y 11F si consideras probable que III-1 y III-6, respectivamente, sean portadoras del alelo que causa la enfermedad, y en 11G, si III-4 la padecerá.

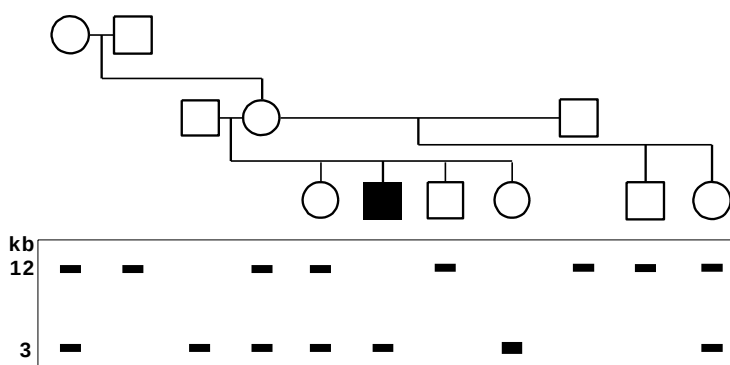


Figura 14

12.- A su regreso de una visita a su familia en Ghana, un niño de 13 años fue detenido en 1983 en el aeropuerto de Heathrow, acusado de ser portador de un pasaporte falso. Dijo llamarse Andrew y que vivía en Londres con su madre, Christiana Sarbah. Los ensayos genéticos disponibles en esa época permitieron concluir que Christiana podía ser la madre de Andrew, pero también su tía o su hermana. Andrew quedó a la espera de ser deportado a Ghana.

Alec Jeffreys, profesor de la Universidad de Leicester, comparó el ADN de Christiana (Ch) y tres de sus hijos, David (Da), Joyce (Jo) y Diana (Di), con el de Andrew (An). También analizó el ADN de un individuo (X) sin parentesco con Christiana. El análisis consistió en (1) la digestión de dos muestras de ADN de cada individuo con dos restrictasas diferentes (izquierda y derecha en la Figura 15), (2) su electroforesis y transferencia a membrana, (3) su hibridación con una sonda radiactiva específica de un minisatélite hipervariable, presente en numerosos puntos del genoma humano, y (5) la autorradiografía de la membrana.

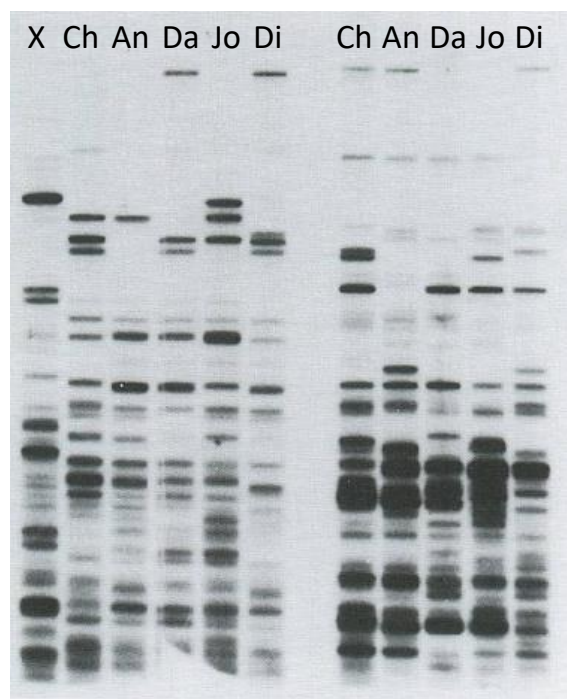


Figura 15

Indica en 12A cuál es la causa molecular de las diferencias entre individuos que se observan en la Figura 15, y justifica en 12B si la autorradiografía sugiere o demuestra que Andrew es hijo de Christiana.

13.- Un investigador pretende identificar un clon en una genoteca genómica suficientemente representativa del genoma de *Bos taurus* (3.000 Mb), empleando como sonda un ADNc humano. ¿Cuántos clones deberá someter a escrutinio para que la probabilidad de encontrar el que busca sea del 95%? Responde en 13A si el vector con el que se ha construido la genoteca es un plásmido con insertos de 7 kb de tamaño medio; en 13B, si deriva de λ , y los insertos son de 20 kb; en 13C, si es un cósmido, y sus insertos, de 40 kb; y en 13D, si es un YAC, y los insertos, de 350 kb.

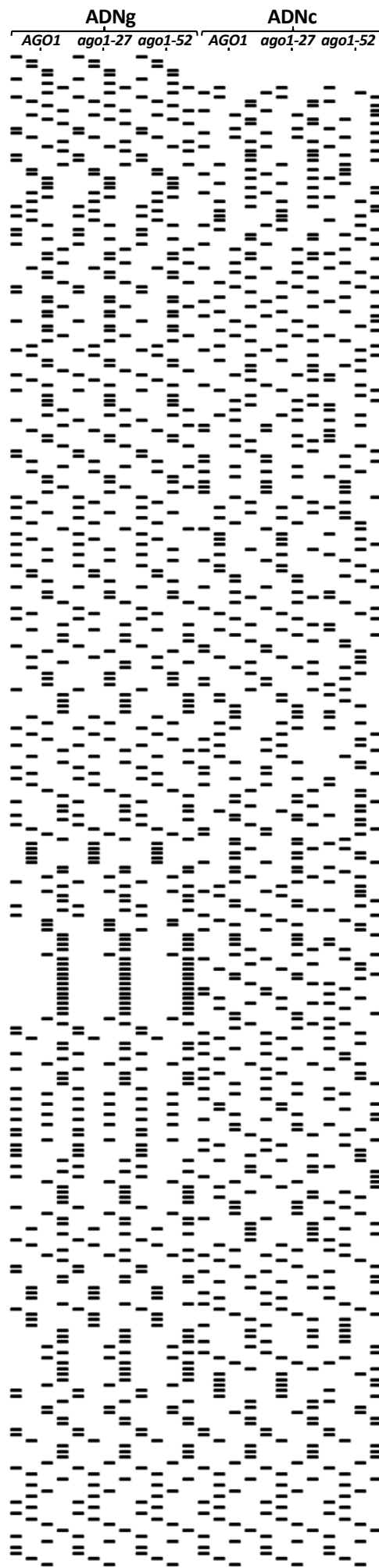
14.- Con el propósito de caracterizar varios alelos mutantes del gen *MAD* (*mothers against decapentaplegic*) de *Drosophila melanogaster* se sintetizaron dos oligonucleótidos (MADX: 5'-GGG TCGACCATTACAGATTACAGATTACA-3' y MADY: 5'-AAGAGCTCAGATACGGTCGGATCAGATAC-3') para utilizarlos como cebadores en amplificaciones por PCR. El producto de amplificación obtenido fue alicuotado para obtener construcciones de dos maneras diferentes: o (1) fue mezclado con el vector pGEM-T Easy (Figura 8) y la ligasa de T4, o (2) fue digerido con dos endonucleasas de restricción y después mezclado con el vector pBluescript II SK (+) previamente digerido con las mismas restrictasas, para a continuación ligarlos. Los tamaños de los productos de estas dos ligaciones, pGEMTEasy-MAD y pBluescriptII-SK-MAD, difirieron en unas 100 pb y se emplearon para transformar células JM109 electrocompetentes. Indica en 14A las dos restrictasas que se usaron en el experimento 2 antes mencionado.

Se pretende subclonar en pBluescript II SK (+) el inserto MAD de pGEMTEasy-MAD. Con este fin, se digiere pGEMTEasy-MAD con *Apal* y *NsiI*, y se aísla el fragmento de restricción que contiene el inserto MAD para ligarlo con pBluescript II SK (+). Indica en 14B con qué restrictasas será necesario digerir pBluescript II SK (+) para prepararlo para esta ligación.

Escribe en 14C y 14D las temperaturas de fusión de MADX y MADY, respectivamente. Detalla los posibles autoapareamientos por complementariedad interna (*horquilla*; *hairpin*; en 14E y 14F), autodímeros (14G y 14H) o heterodímeros (14I) de MADX y MADY. Ten en cuenta únicamente los apareamientos perfectos de 8 o más pares de bases adyacentes.

15.- *AGO1*, el alelo silvestre del gen *ARGONAUTE1* de *Arabidopsis thaliana*, fue secuenciado en el laboratorio de María Rosa Ponce junto con sus alelos mutantes *ago1-27* y *ago1-52*. Se empleó para ello la versión tradicional del método de Sanger, con los resultados que muestra la Figura 16. Se purificó ARNm de estas tres estirpes, que se retrotranscribió a ADNc para secuenciarlo. Indica en 15A la secuencia del alelo silvestre *AGO1*, destacando en mayúsculas los exones, y en minúsculas, los intrones. Obtén un alineamiento múltiple con CLUSTALW2 de las seis secuencias nucleotídicas de la Figura 16 y pégalo en 15B. Alinea en 15C la parte de la secuencia de las tres proteínas que puede deducirse de la Figura 16, destacando en rojo los aminoácidos que aparecen como consecuencia de las mutaciones de *ago1-27* y *ago1-52*. Explica en 15D estas mutaciones y sus efectos sobre los ARNm y las proteínas mutantes.

Figura 16.- Autorradiografía de la secuenciación por el método de Sanger de la región 3' de los genes y moléculas de ADNc que se indican.



16.- Interpreta el mapa de la Figura 17 explicando la función natural (actividad enzimática del producto génico) y el uso en Ingeniería Genética (especificando la parte relevante del genotipo de las células hospedadoras y de la composición del medio de cultivo) de los genes *URA3* (en 16A y 16B), *TRP1* (16C y 16D), *HIS3* (16E y 16F) y *ampR* (16G y 16H). Indica en 16I a 16L para qué especie de células hospedadoras son útiles los cuatro marcadores seleccionables mencionados, y en 16M a 16O, la función de las secuencias *ARS1*, *CEN4*, *TEL* y *pMB1 ori*, respectivamente.

¿Qué tipo de vector es pQUE? ¿Es un vector lanzadera? ¿Cómo seleccionarías células transformantes portadoras de un inserto incorporado al vector tras la digestión de ambos con *SauI*? Responde en 16P, 16Q y 16R, respectivamente.

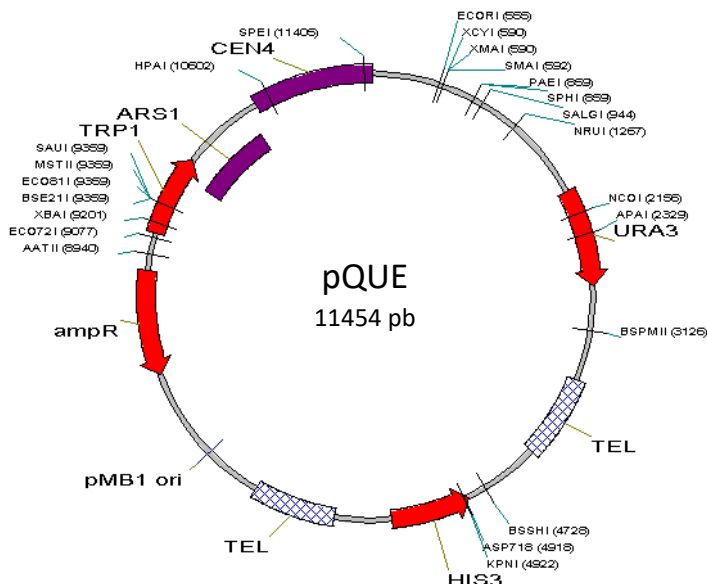


Figura 17.- Mapa del vector pQUE.

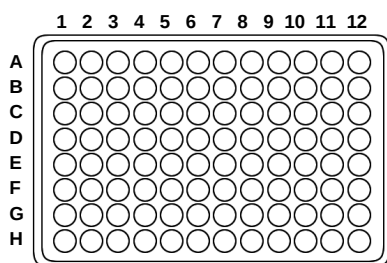


Figura 18.- Numeración de las placas de microtitulación del problema 17.

Tabla 5.- Análisis de STS

STS	Mezclas de YAC positivas
63	II-6, II-A
210	II-6, II-A, IV-C, IV-3
522	VII-E, VII-12, I-C, I-8
713	I-C, I-8
714	VII-E, VII-12
719	X-H, X-9, IV-C, IV-3
991	X-H, X-9, VII-E, VII-12
1071	II-6, II-A, IV-C, IV-3, X-H, X-9
2631	II-6, II-A
3097	VII-E, VII-12, I-C, I-8
4630	VII-E, VII-12, I-C, I-8
5192	X-H, X-9, IV-C, IV-3
6193	X-H, X-9, VII-E, VII-12
6892	II-6, II-A, IV-C, IV-3

17.- Se estudió la presencia de 8.203 STS en 960 clones YAC para generar un mapa físico del genoma del ornitorrinco (*Ornithorhynchus anatinus*). Indica en 17A cuántas amplificaciones de PCR serían necesarias si tuvieran que comprobarse todas las STS en todos los YAC. Para reducir un número tan elevado de ensayos, se cultivaron individualmente los clones YAC en 10 placas (I a X) de microtitulación de 96 pocillos, numerando sus columnas de 1 a 12, y sus filas, de A a H (Figura 18). Cada clon YAC recibió así un código único (placa, columna y fila; por ejemplo: VII-6E). A continuación, se extrajeron y mezclaron los ADN de todos los clones de cada columna (por ejemplo: III-4) o fila (por ejemplo: X-A), para comprobar la presencia de los STS en cada mezcla. ¿Cuántas mezclas de ADN de clones YAC deberán someterse así a ensayo para comprobar la presencia de cada STS? ¿Cuántas amplificaciones deberán hacerse para comprobar la presencia de todas las STS? Si las mezclas II-6 y II-F resultan positivas para la STS 6239, ¿cuál es el código del YAC que contiene esta STS? Si solamente la mezcla IV-6 resultase positiva para la STS 2555, ¿cómo lo interpretarías? Responde en 17B a 17E, respectivamente. En la Tabla 5 se muestran los resultados de las amplificaciones en las que se confirmó la presencia de 14 STS en varios YAC. Construye en 17F un cóntigo con los clones YAC de la Tabla 5.

18.- Una investigadora del laboratorio de José Luis Micol, en la Unidad de Genética del Instituto de Bioingeniería de la UMH, secuenció simultáneamente varias moléculas de ADN por el método de Sanger, en su versión semiautomatizada y fluorescente, y obtuvo entre otros los electroferogramas de las Figuras 19 y 20. Algunas de dichas moléculas eran muestras de ADN genómico, y otras, productos de PCR que habían sido amplificados empleando oligonucleótidos de 20 nt como cebadores.

Explica en 18A si la amplificación que se produce en una reacción de secuenciación cíclica es exponencial o lineal, y justifícalo en 18B. Comenta en 18C en qué difieren las partes de los electroferogramas que corresponden a las secuencias de las regiones 3' de L2_450_3R (Figura 19) y 7_C09 (Figura 20). Dado que las dos electroforesis mencionadas en el párrafo anterior se llevaron a cabo en idénticas condiciones, incluida su duración, indica en 18D a qué se deben las diferencias en la longitud de la secuencia legible que se aprecian entre los dos electroferogramas. Indica en 18E cuál de las dos moléculas es un producto de PCR, y justifícalo en 18F. Explica en 18G si puede reconocerse o no en los electroferogramas la secuencia del cebador que se ha empleado en las reacciones de secuenciación cíclica, y en su caso, escríbela en 18H (indicando sus extremos 5' y 3'). ¿Reconoces en alguno de los dos electroferogramas la secuencia de algún cebador que no se haya

empleado en la reacción de secuenciación cíclica? Responde “Sí” o “No” en 18I, y en su caso, escribe la correspondiente secuencia en 18J (indicando sus extremos 5’ y 3’). Formula una hipótesis que explique la A de la posición 534 (en 18K) y el pico doble (C y T) de la posición 68 (en 18L) del electroferograma de la Figura 20.

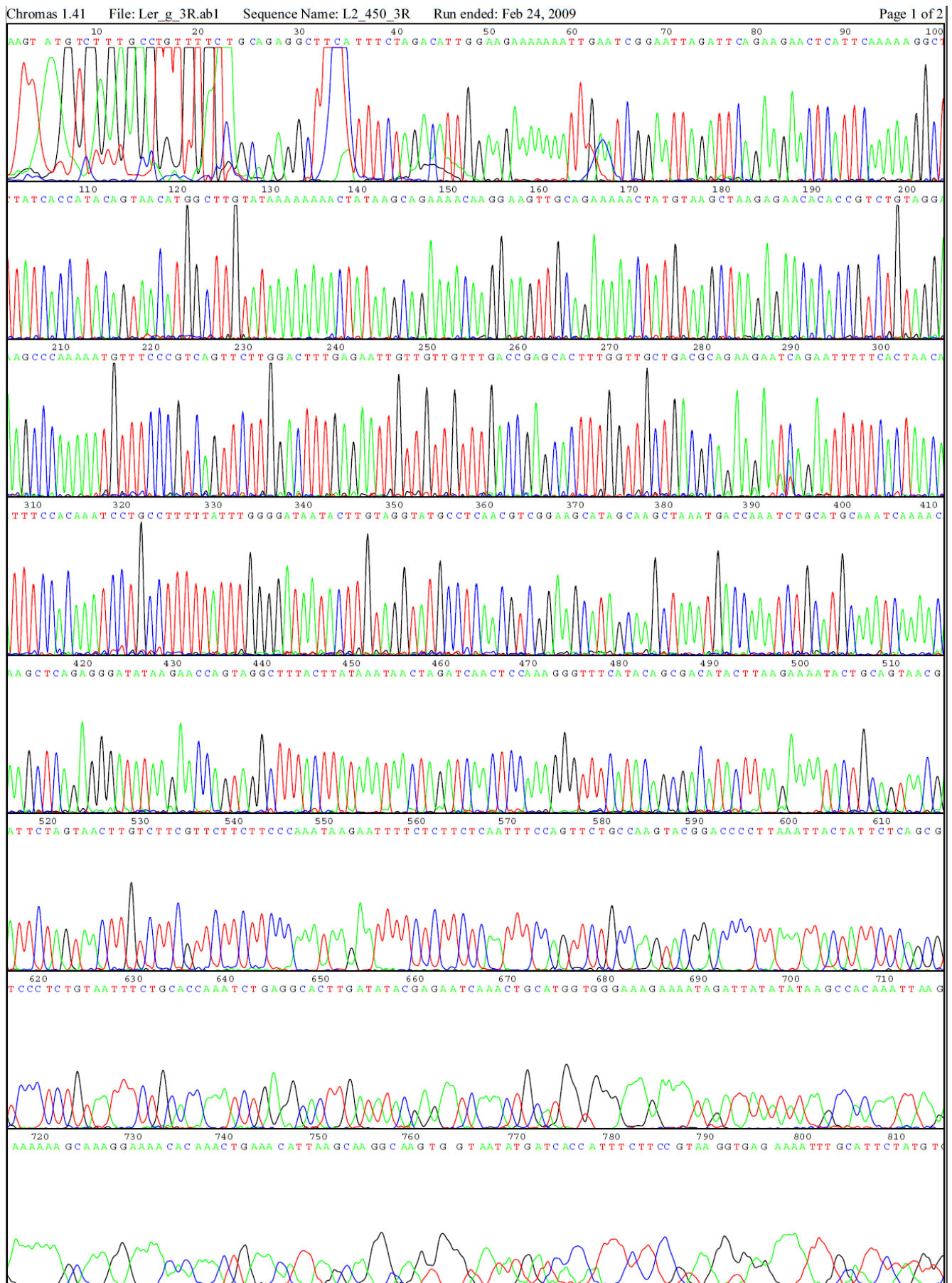


Figura 19.- Electroferograma resultante de la secuenciación de la molécula L2_450_3R del problema 18.

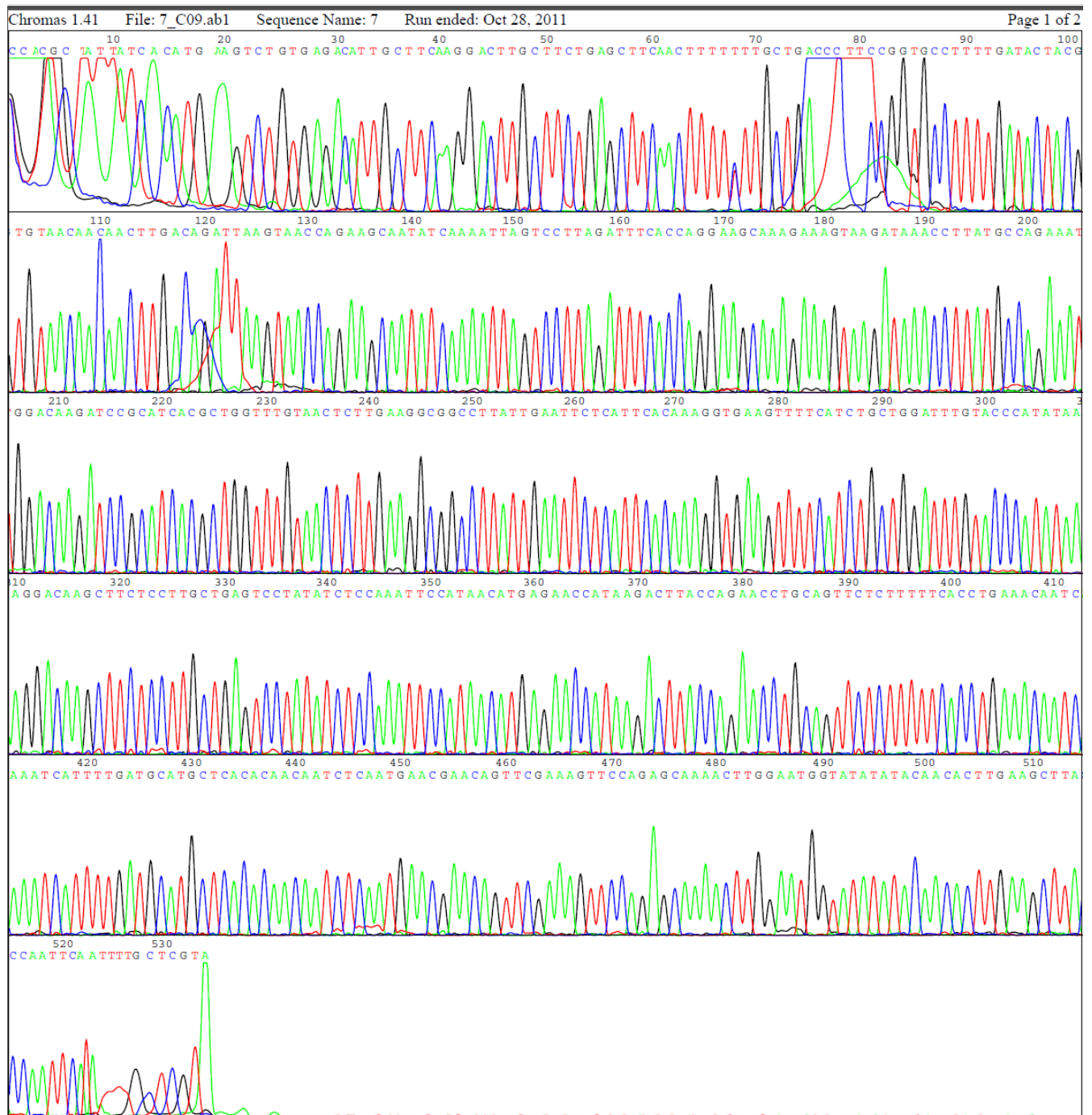


Figura 20.- Electroferograma resultante de la secuenciación de la molécula 7_C09 del problema 18.

19.- Las mutaciones de insuficiencia de función en el gen *INDY* (*I'm not dead yet*) de *Drosophila melanogaster* incrementan, y a veces duplican, la longevidad de esta mosca. Un investigador interesado en prolongar la vida humana decide encontrar los ortólogos de *INDY* en los genomas de varias especies de mamíferos, entre ellos el nuestro (*Homo sapiens*), los de algunos animales de compañía, como el perro (*Canis lupus familiaris*) y el gato (*Felis silvestris catus*), y otras que tienen un uso ganadero, como la vaca lechera (*Bos taurus*), o deportivo, como el caballo (*Equus ferus caballus*). El investigador realizó una búsqueda en la base de datos del NCBI (National Center for Biotechnology Information, Estados Unidos) empleando la frase de búsqueda "INDY melanogaster". Encontró así varias decenas de secuencias en la base de datos, cuatro de las cuales tenían los números de acceso NM_001169994.1, NM_079426.3, NM_168779.1 y NM_168778.1. Explica en 19A qué relación existe entre estas cuatro secuencias.

Entre las restantes secuencias encontradas solo una tenía alguna relación con nuestra especie, la del ortólogo de *INDY* en el piojo (*Pediculus humanus*), y ninguna pertenecía a un vertebrado, siendo la más cercana a los mamíferos la del erizo de mar púrpura (*Strongylocentrotus purpuratus*). El investigador decidió entonces diseñar oligonucleótidos degenerados para utilizarlos con el propósito de amplificar presuntos ortólogos de *INDY*, empleando como molde ADN genómico de los mamíferos mencionados en el párrafo anterior. Para ello,

realizó una búsqueda usando el programa BLASTX del NCBI, introduciendo en la ventana de búsqueda ("Enter query sequence") el código NM_001169994.1 y eligiendo la base de datos "Non-redundant protein sequences (nr)". Por este procedimiento encontró genes relacionados con *INDY* en varios genomas de mamíferos, todos los cuales resultaron ser miembros de una familia génica que codifica transportadores de dicarboxilato dependientes de sodio. Copia y pega en 19B el alineamiento realizado por BLASTX entre la proteína que se traduce partir de NM_001169994.1 y la de su presunto ortólogo en la rata parda (*Rattus norvegicus*).

El investigador decidió finalmente emplear las secuencias aminoacídicas FLSMWIS y LLGGGFA para diseñar oligonucleótidos degenerados que permitiesen la amplificación de segmentos del genoma humano y los del perro, el gato, la vaca y el caballo. Identifica en el alineamiento que has enviado al profesor las posiciones de estas dos secuencias aminoacídicas conservadas y escribe en 19C las secuencias de los dos oligonucleótidos degenerados, ambos de 21 nt, que deben sintetizarse para su uso como cebadores en amplificaciones por PCR, indicando sus extremos 5' y 3'.

20.- La fibrosis quística es una enfermedad autosómica recesiva, que reduce la esperanza de vida de quienes la padecen a seis meses en los países más pobres y a unos 35 años en los más ricos. Los mapas de las dianas de *EcoRI* (R) en los alelos silvestre y mutante del gen de la fibrosis quística se muestran en la Figura 21. Se obtuvieron muestras de ADN de un feto (F) y sus padres (M y P), que fueron sometidas a una electroforesis en gel de agarosa seguida de una transferencia a membrana por el método de Southern. La membrana fue hibridada con una sonda FQ marcada radiactivamente, obteniéndose la autorradiografía de la Figura 21. ¿Padecerá el feto la enfermedad? Responde en 20A y justifica tu respuesta en 20B.

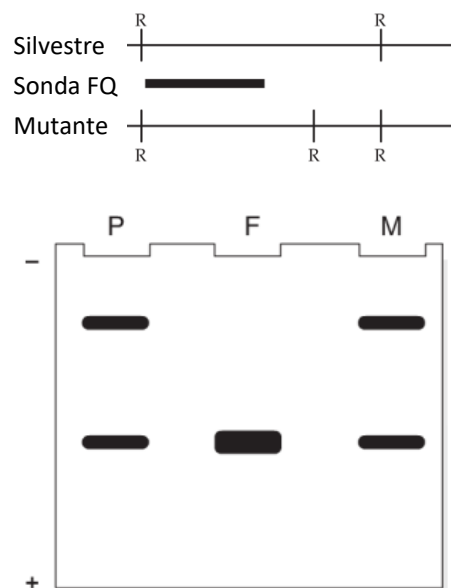


Figura 21

Una variante poco común de la enfermedad de Parkinson está asociada a una mutación puntual G→A en una diana de *Tsp45I* [5'-GT(C/G)AC-3'] en el cuarto exón del gen de la α -sinucleína humana. Se dispone de cebadores (al1 y al2) para la amplificación por PCR de la totalidad de dicho exón. En el producto de la amplificación del alelo silvestre del gen de la α -sinucleína, que tiene 200 pb, la diana de *Tsp45I* dista 40 pb de uno de los extremos de la molécula.

Describe sucintamente en 20C las etapas necesarias para comprobar si una persona que padece la enfermedad de Parkinson es portadora de la mutación en el gen de la α -sinucleína descrita en el párrafo anterior, haciendo uso de los cebadores al1 y al2. Indica qué resultados obtendrías aplicando el método que has descrito en 20C a los individuos homocigóticos para el alelo silvestre (en 20D), los homocigóticos para el alelo mutante (20E) y los heterocigóticos (20F). ¿Cómo averiguarías si se transcribe el alelo mutante en un tejido concreto de un individuo heterocigótico? Responde en 20G.

21.- La huella molecular (*genetic fingerprint*) tiene entre otros usos el de intentar identificar niños robados, con el propósito de devolverlos a sus padres biológicos. Éste fue el caso de Sarah Sting, que fue vista por última vez en el aparcamiento de un supermercado de Bon Temps (Luisiana) cuando tenía 4 años. Doce años después, se acusó del secuestro de Sarah a Eric y Kristin Neman, que vivían con Betty, su hija de 16 años, en Pasadena (California). Se tomaron muestras de ADN del padre (PS) y la madre (MS) de Sarah Sting, así como de Betty (BN), Eric (EN) y Kristin (KN) Neman, y se obtuvieron sus huellas moleculares empleando una sonda multilocus para una familia de VNTR, con los resultados que muestra la Figura 22. Indica en 21A si la autorradiografía permite afirmar que Betty no es hija de Eric y Kristin Neman (responde sí o no), y justifícalo en 21B. Indica también si la autorradiografía permite concluir que Betty Neman es Sarah Sting con mucha probabilidad (21C) o con total certeza (21D), y justifícalo en 21E.

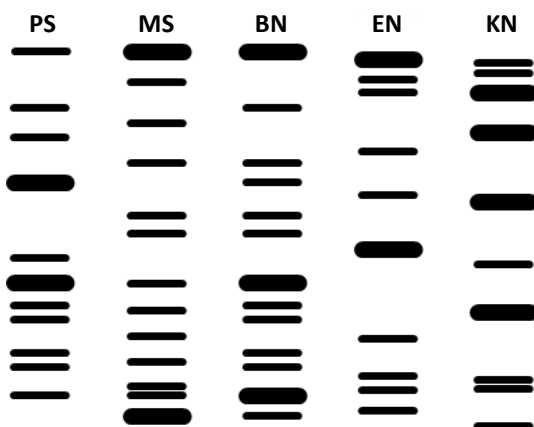


Figura 22.- Autorradiografía del problema 21.

22.- Obtén información en Internet acerca del vector pGSA1204. Copia y pega el mapa de este vector en 22A. ¿Es pGSA1204 un vector lanzadera? Responde “Sí” o “No” en 22B y explica sucintamente tu respuesta. Explica en 22C-22K la función de las secuencias Km, Cm, Hyg, GUS, Bar, OCS 3', CaMV 35S, LB y RB, respectivamente.

23.- Interpreta el mapa del vector pGen2.1, que aparece en la Figura 23, explicando sucintamente en 23A-23L la función de las secuencias denominadas CMV Promoter, attB1, NotI, XbaI, BamHI, attB2, ApaI, SV40 promoter, Neomycin, SV40 pa, ColE1 ori y Ampicillin. ¿Es pGen2.1 un vector lanzadera? Responde “Sí” o “No” en 23M.

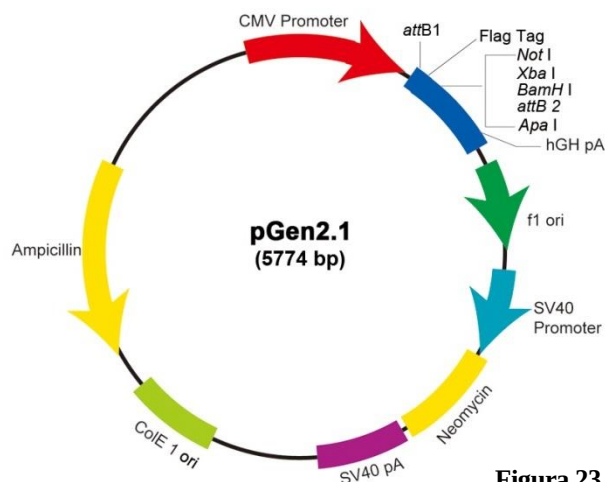


Figura 23

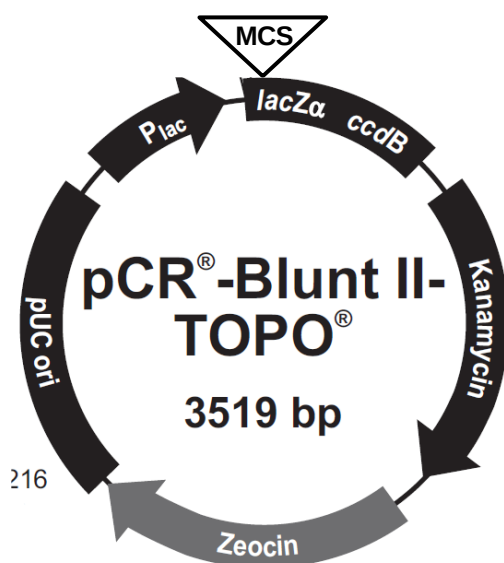


Figura 24

24.- Varias de las polimerasas termoestables de uso común en Ingeniería Genética rinden productos de amplificación por PCR con extremos romos. La polimerasa *Taq*, sin embargo, presenta actividad desoxinucleotidil transferasa terminal y rinde productos de amplificación con una A sobresaliente en 3'.

El vector pCR-Blunt II-TOPO (Figura 24) fué diseñado por Invitrogen para facilitar la clonación de productos de PCR con extremos romos. Se suministra linearizado, con una molécula de la Topoisomerasa I del virus *Vaccinia* covalentemente unida a cada uno de sus dos extremos 3'. ¿Es pCR-Blunt II-TOPO un vector lanzadera? Responde “Sí” o “No” en 24A. Interpreta el mapa del vector pCR-Blunt II-TOPO, explicando sucintamente en 24B-24G la función de las secuencias P_{lac} , *lacZα*, MCS, Kanamycin, Zeocin y pUC ori. Explica en 24H el uso del gen *ccdB* en este vector.

Los oligonucleótidos sintetizados por el método de la fosforamidita presentan un grupo hidroxilo en su extremo 5'. Pueden ser fosforilados empleando para ello una polinucleótido quinasa, modificación que los encarece en un 300%.

Explica en 24I por qué Invitrogen recomienda expresamente que no se fosforilen los oligonucleótidos que servirán de cebadores en las amplificaciones en las que se pretende obtener productos de PCR con extremos romos para su clonación con pCR-Blunt II-TOPO.

25.- La borreliosis o enfermedad de Lyme es causada por *Borrelia burgdorferi*. Es transmitida por garrapatas del género *Ixodes* que pican sucesivamente a ratones o ciervos infectados y a personas. Se han desarrollado vectores Gateway adecuados para su uso en células de esta espiroqueta, que está recibiendo una atención creciente en los países en los que se viene incrementado la incidencia de la enfermedad, que puede ser grave.

En la Figura 25 se representan los orígenes de replicación de *Escherichia coli* en gris, y los de *Borrelia burgdorferi*, en blanco. Interpreta en 25A esta figura, explicando los eventos que tienen lugar y la composición del medio de cultivo en el que deben seleccionarse las bacterias portadoras de la construcción pBBE22gate+GOI. ¿Es pBBE22gate un vector lanzadera? Responde “Sí” o “No” en 25B.

Indica en 25C cuatro rasgos fenotípicos que deberían reunir las células hospedadoras en las que se mantiene el vector pBBE22gate que aparece en la parte superior derecha de la Figura 25.

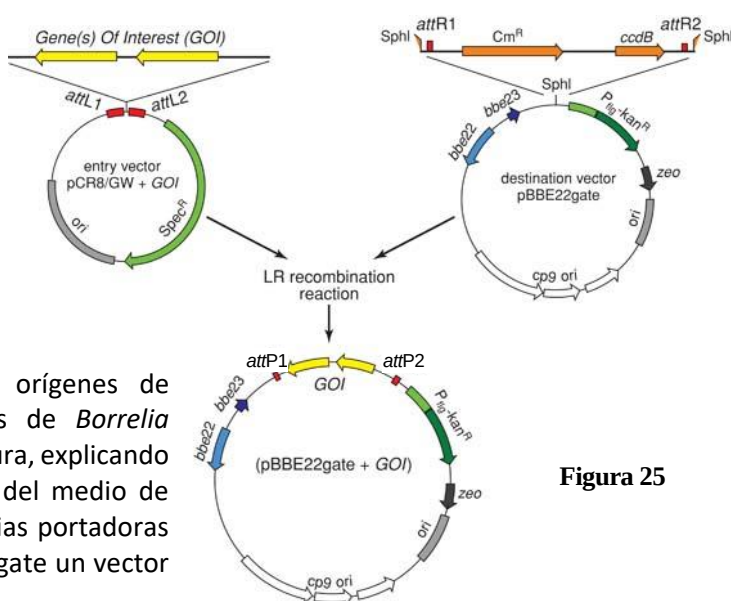


Figura 25

26.- Un ensayo de qRT-PCR para la determinación en sangre del número de copias de un virus cuyo genoma es ARN arrojó los resultados que se observan en la Figura 26. Si el valor de C_T de la muestra A es 17, indica en 26A a 26E los de las muestras B a F, respectivamente. Si en la muestra F hay 0,2 virus/ μ l, indica en 26F a 25J cuántos contienen las muestras A a E, respectivamente. ¿A qué se debe que en todas las muestras se alcancen valores finales de ΔR_n similares? Responde en 26K. Explica sucintamente en 26L tu opinión al respecto de si el ensayo que aquí se comenta está basado en el uso de *SYBR Green* o una sonda *TaqMan*.

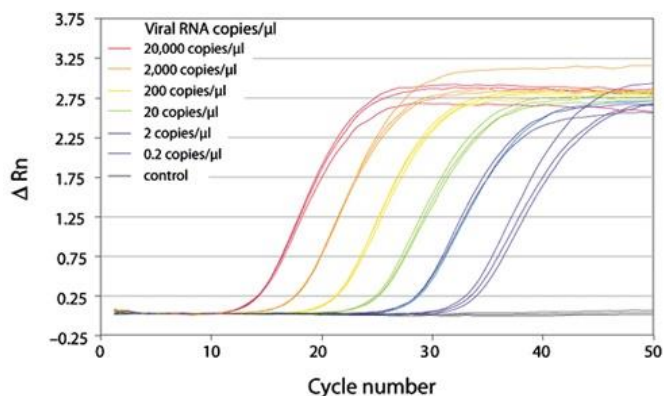


Figura 26.- Resultados de la qRT-PCR del problema 25.

27.- Se construyó una genoteca de ADNc a partir de ARNm de células de hígado de pato (*Anas platyrhynchos domesticus*). El inserto de uno de los clones de ADNc (pahi1) rindió el mapa de la Figura 27A tras su restricción con *EcoRI* (E), *HindIII* (H) y *BamHI* (B). Empleando pahi1 como sonda, se sometió a escrutinio una genoteca construida a partir de ARNm de cerebro de pato, y se identificaron tres clones idénticos (pace1, pace2 y pace3), cuyo mapa de restricción es el de la Figura 27B.

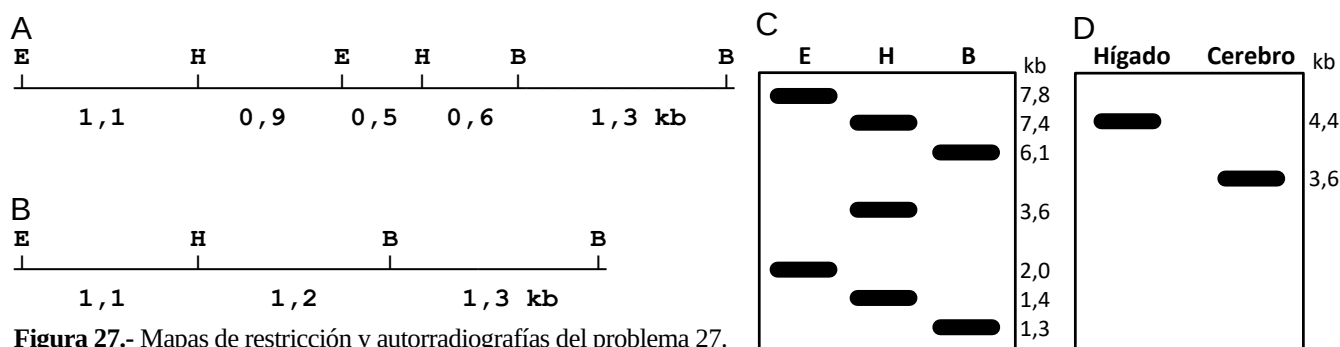


Figura 27.- Mapas de restricción y autorradiografías del problema 27.

Los tres ADNc de cerebro se utilizaron para sintetizar sondas marcadas con ^{32}P por el método de desplazamiento de mella. Tres alícuotas de ADN genómico de pato fueron digeridas por separado con *EcoRI*, *HindIII* y *BamHI*. Los fragmentos de restricción así obtenidos fueron sometidos a electroforesis y transferidos a una membrana por el método de Southern. La membrana fue hibridada con la sonda pace1, obteniéndose finalmente la autorradiografía que se muestra en la Figura 27C. El experimento se repitió con pace2 y pace3, obteniéndose idénticos resultados. Cuando las sondas pace1, pace2 y pace3 se utilizaron en un experimento de *northern* en el que se había purificado, sometido a electroforesis y transferido a una membrana ARN poliadenilado de hígado y de cerebro de pato se obtuvo la autorradiografía de la Figura 27D.

¿Corresponden estos cuatro ADNc al mismo gen? ¿Por qué aparecen dos bandas de diferente tamaño en el *northern*? ¿Cuál es el motivo de que pahi1 tenga un mapa de restricción distinto de pace1, pace2 y pace3? ¿Por qué algunas bandas del Southern tienen tamaños que no se corresponden con los fragmentos de restricción de los ADNc? Responde a estas preguntas en 27A a 27D, respectivamente.

28.- Durante la realización de su trabajo de fin de grado, se asigna a una alumna de cuarto curso de Biotecnología de la UMH la tarea de identificar la secuencia reguladora a la que se une el factor de transcripción FOXA₃, que regula directamente a *APOA2* y a otros genes humanos. Para ello, se le proporcionan los cuatro clones que se describen en la Tabla 6.

Tabla 6.- Clones que se mencionan en el enunciado del problema 28

Clon	Vector	Inserto	Células hospedadoras
FOXA3-ADNg	pBeloBAC11	Región genómica que contiene al gen FOXA ₃	<i>Escherichia coli</i>
FOXA3-ADNc	p427-TEF	ADNc del gen FOXA ₃	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
APOA2-ADNg	pBeloBAC11	Región genómica que contiene al gen APOA2	<i>Escherichia coli</i>
APOA2-ADNc	p427-TEF	ADNc del gen APOA2	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>

Indica en 28A qué clones de la Tabla 6 deberá emplear la estudiante para llevar a cabo un experimento de protección contra DNasa I (*footprinting*) con el propósito de aislar el segmento del promotor de *APOA2* al que se une *FOXA3*, y explica en 28B si será necesario amplificar mediante PCR parte del inserto.

La estudiante realiza a continuación un experimento de inmunoprecipitación y secuenciación de cromatina (*ChIP-Seq*), obteniendo en un secuenciador masivo SOLiD lecturas de 35 nt, que son finalmente alineadas con la secuencia de referencia de los cromosomas humanos. En la Figura 28 se representan las lecturas obtenidas que se alinean con la parte del cromosoma 20 que contiene el promotor y la región 5' de la unidad de transcripción de *APOA2*. Explica en 28C a qué se debe la acumulación de lecturas que se observa en el centro de la Figura 28.

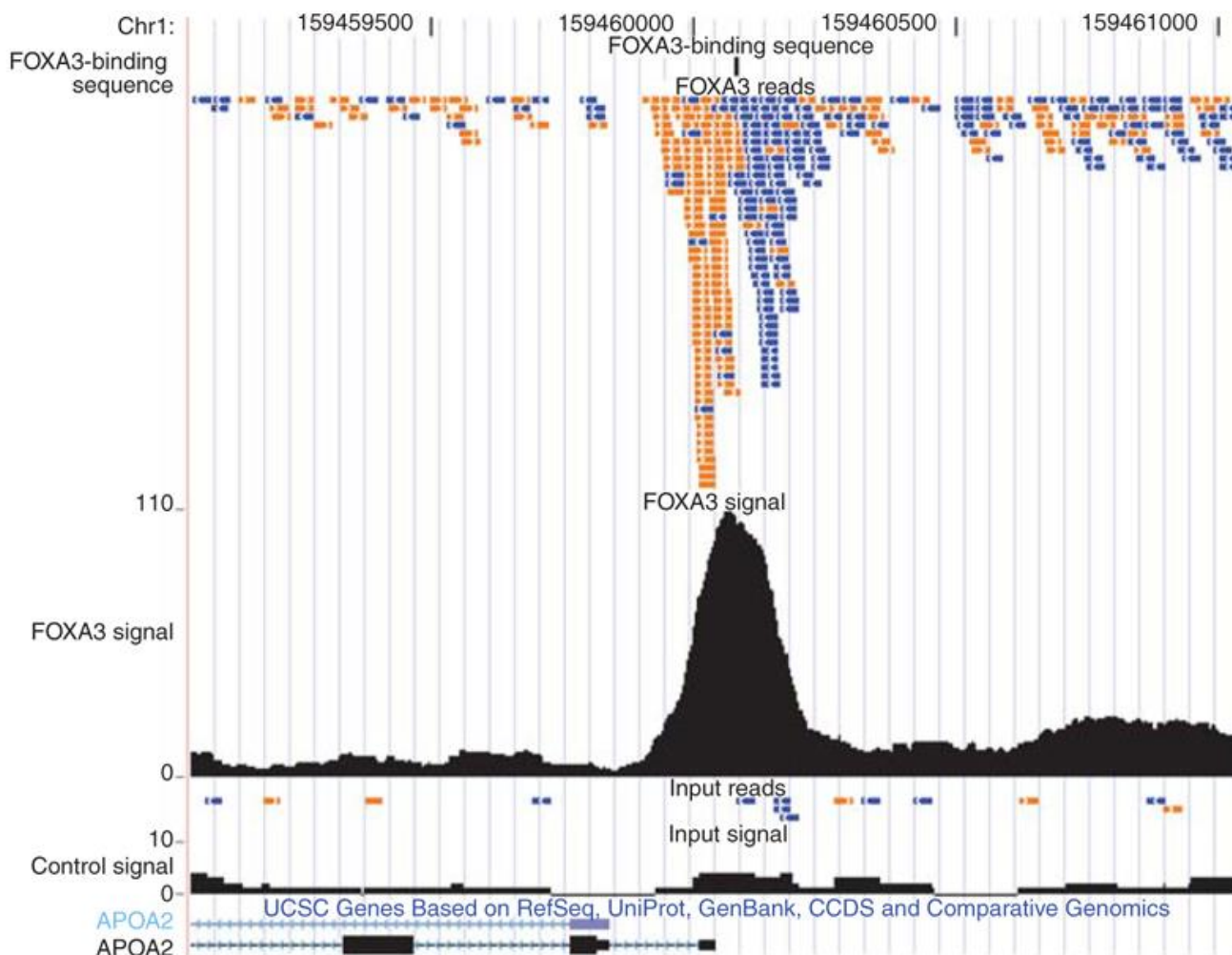


Figura 28.- Representación gráfica del alineamiento de las lecturas obtenidas a partir de cromatina humana inmunoprecipitada con un anticuerpo contra *FOXA3*. Los colores azul y naranja corresponden a lecturas obtenidas a partir de cada una de las dos cadenas complementarias del ADN. En la parte inferior aparecen las lecturas correspondientes a cromatina de control (“Input”), que no había sido inmunoprecipitada. El pico aparece inmediatamente antes del primer exón del gen *APOA2*.

29.- Investigadores de las universidades de Harvard y Stanford llevaron a cabo varios análisis globales de expresión génica, empleando para ello ARN total, extraído de células madre hematopoyéticas purificadas a partir de la médula ósea de ratones jóvenes (2-3 meses), de mediana edad (12 meses) y viejos (19-22 meses). Comprobaron en primer lugar la calidad del ARN total obtenido, empleando un bioanalizador, con los resultados que muestra la Figura 29. Explica en 29A el origen de las dos bandas negras de la calle 1 del gel de la Figura 29A (la banda verde es una molécula de control interno), y en 29B a qué picos del electroferograma de la Figura 29B1 corresponden. Indica en 29C, 29D y 29E cuáles son las muestras de la Figura 29A en las que el ARN es de alta calidad o está parcialmente degradado, o muy degradado, respectivamente. Indica en 29F y 29G, respectivamente, a qué calles del gel de la Figura 29A corresponden los electroferogramas de las Figuras 29B2 y 29B3.

Los investigadores compararon los niveles de expresión de más de 20.000 genes entre las tres poblaciones de ratones antes mencionadas. Una vez finalizado su análisis de micromatrices, intentaron validar algunos de sus resultados mediante RT-PCR cuantitativa, obteniendo los resultados que aparecen en la Figura 29C, en la que la variable “Fold Change” indica el número de veces en que el nivel de expresión de un gen difiere

entre muestras de células de ratones viejos y jóvenes. Utilizaron como controles varios genes cuya expresión, estimada mediante micromatrices, no parecía depender de la edad. ¿Cuáles son estos genes de control en la Figura 29C? Responde en 29H. ¿Cuáles son los genes cuya sobreexpresión en las micromatrices quedó validada (responde en 29I) o no (en 29J) mediante qRT-PCR?

La Figura 29D recoge los resultados de la comparación mediante análisis de micromatrices entre ratones viejos o jóvenes y los de mediana edad. ¿Qué indica la escala de color que aparece en la parte inferior derecha de la Figura 29D, bajo el mapa de calor? ¿Depende inequívocamente de la edad la expresión de todos los genes de la Figura 29D? ¿Qué genes te parecen dudosos? Responde en 29K a 29M, respectivamente.

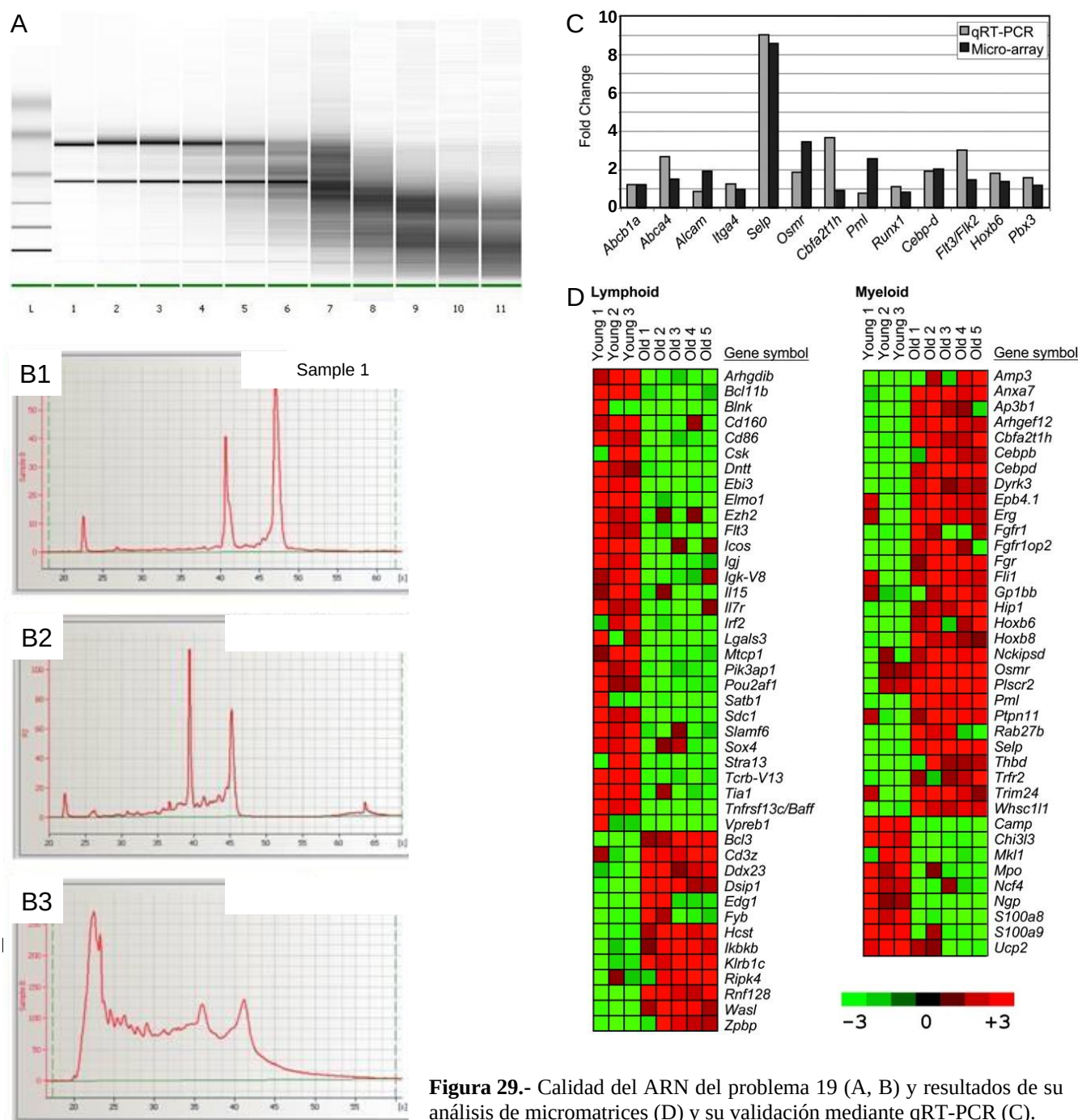


Figura 29.- Calidad del ARN del problema 19 (A, B) y resultados de su análisis de micromatrices (D) y su validación mediante qRT-PCR (C).

30.- El gen *WYO* humano presenta 4 secuencias que parecen ser donantes del *splicing*, y otras tantas que parecen aceptores. Una investigadora obtiene dos muestras de ARN poliadenilado, de hígado y riñón, y lleva a cabo un ensayo de secuenciación masiva de ADNc (*RNA-Seq*) en un secuenciador masivo Illumina. Los resultados de este experimento en lo que respecta al gen *WYO* se recogen en la Figura 30, en la que se indica el número de lecturas (35-50 nt) que contienen secuencias de un solo exón (# Exon Reads) o de dos (# Junction Reads). Cada lectura (Sequence Alignments) se representa en la Figura 30 como una línea horizontal, alineada con la correspondiente secuencia del genoma. ¿Cuántas moléculas distintas de ARNm de *WYO* existen en el riñón y en

el hígado? ¿Qué exones contiene la más abundante de estas moléculas en el riñón y el hígado, y cuál es su tamaño aproximado? Responde en 30A a 30F, respectivamente, razonando tus respuestas. ¿Cómo se denomina el proceso que genera estas variantes de ARNm a partir de un transcrito primario? ¿Cómo se explica la presencia en la Figura 30 de lecturas de secuencias aparentemente intrónicas? Responde en 30G y 30H, respectivamente.

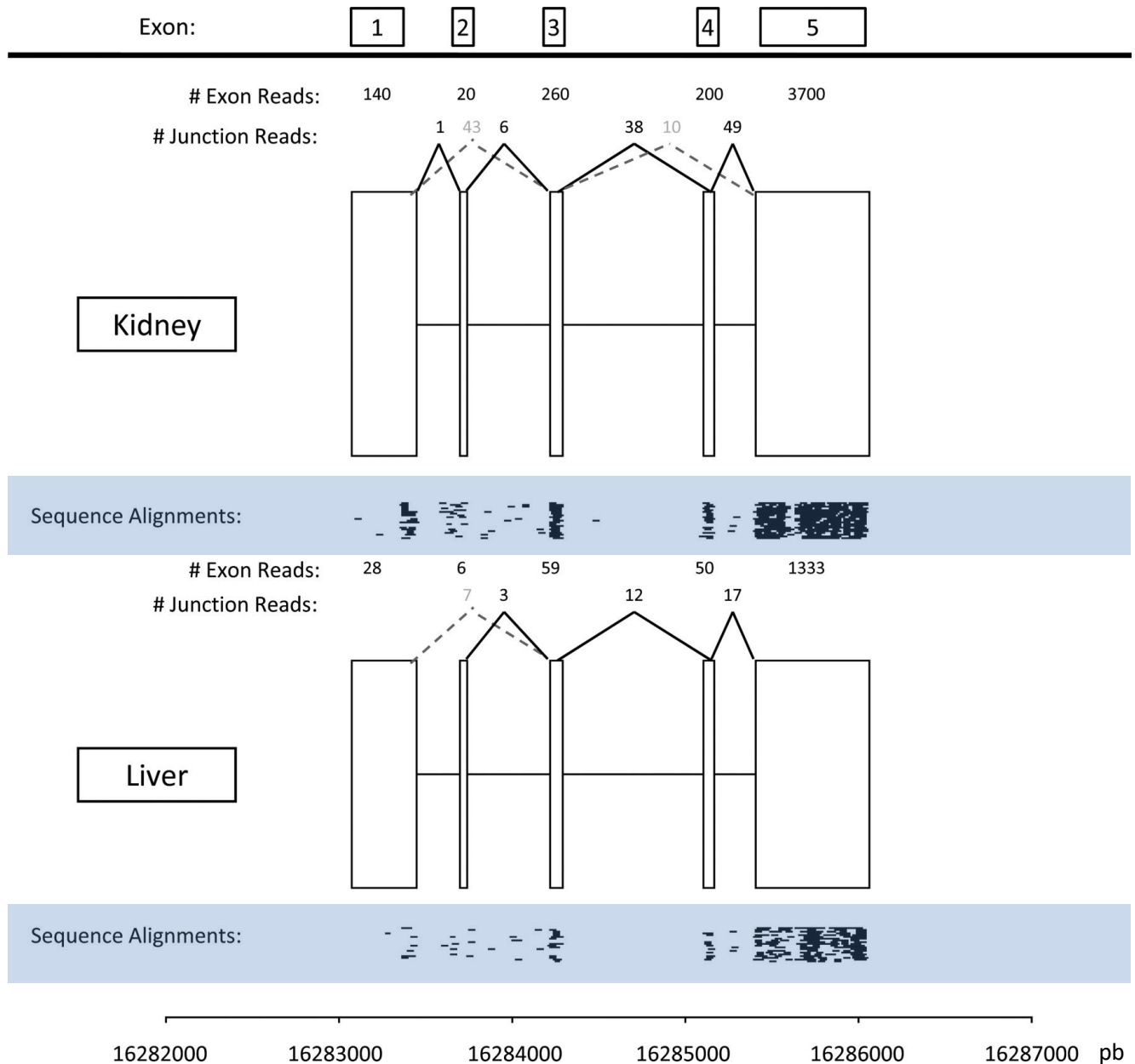


Figura 30.- Representación esquemática de las lecturas obtenidas en un experimento de secuenciación masiva de ADNc, alineadas con el gen *WYO*, cuyos exones se representan a escala. Las lecturas aparecen en las franjas sombreadas en azul. Los rectángulos blancos representan a los exones.

Área de Genética
Universidad Miguel Hernández

Departamento de Biología Aplicada
Grado en Biotecnología
Curso 2011-12

Hoja de respuestas a la serie Ejemplo 1 de problemas

Apellidos: <i>Apellido1 Apellido2</i>		Nombre: <i>Nombre</i>	
E1A <i>Menor</i>	E1B $2^{100} = 1,267 \cdot 10^{30}$ <i>secuencias</i>	E1C <i>3 puentes de hidrógeno</i>	
E2A $4,52 \cdot 10^{-15} \text{ g}$ $1,5 \cdot 10^{-3} \text{ m}$	E2B $1,15 \cdot 10^{-13} \text{ g}$ $4,25 \cdot 10^{-2} \text{ m}$	E2C <i>2.560 proteínas</i>	E2D <i>72.735 proteínas</i>

Hoja de respuestas a la serie 1 de problemas

Apellidos:		Nombre:	
1A	1B	1C	1D
1E	1F	1G	1H
1I	2A		
3A			
3B			

Área de Genética
Universidad Miguel Hernández

Departamento de Biología Aplicada
Grado en Biotecnología
Curso 2011-12

Hoja de respuestas a la serie 2 de problemas

Apellidos:					Nombre:				
4A			4B			4C			
5A							5C		
...TACATGATCATTTACGGAATTTCTAGCATGTA... ...ATGTACTAGTAAAGTGCCTTAAAGATCGTACAT...									
5B								5F	
Residuo 141 146 HbA ...ser-lys-tyr-arg-COOH HbW1 ...ser-asn-thr-val-lys-leu-glu-pro-arg-COOH HbCS ...ser-lys-tyr-arg-gln-ala-gly-ala-ser-val-ala...									
								5G	
5D									
5E									
6A	6B	6C	6D	6E	6F	6G	6H	6I	6J
6K	6L	6M				6N			
6Ñ		6O			6P				
Calle 4: Amplificación correcta. Producto de tamaño esperado.									

Área de Genética
Universidad Miguel Hernández

Departamento de Biología Aplicada
Grado en Biotecnología
Curso 2011-12

Hoja de respuestas a la serie 3 de problemas

Apellidos:			Nombre:		
7A			7B		
7C			7D		
7E			7F		
7G			7H		
8A	8B	8C	8D		
8E					
8F		9A	9B		
9C			9D		
9F					
9E	9G		9H		

Área de Genética
Universidad Miguel Hernández

Departamento de Biología Aplicada
Grado en Biotecnología
Curso 2011-12

Hoja de respuestas a la serie 4 de problemas

Apellidos:				Nombre:													
10A <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse; margin-top: 10px;"> <tr> <td style="padding: 5px;">AA</td> <td style="padding: 5px;">BB</td> <td style="padding: 5px;">CC</td> <td style="padding: 5px;">DD</td> <td style="padding: 5px;">AB</td> <td style="padding: 5px;">AC</td> <td style="padding: 5px;">AD</td> <td style="padding: 5px;">BC</td> <td style="padding: 5px;">BD</td> <td style="padding: 5px;">CD</td> </tr> </table> 10 kb 8 7 6 5 3 1								AA	BB	CC	DD	AB	AC	AD	BC	BD	CD
AA	BB	CC	DD	AB	AC	AD	BC	BD	CD								
10B	10C	10D	10E	10F													
11A				11B													
11C				11D													
11E			11F			11G											
12A			12B														

Área de Genética
Universidad Miguel Hernández

Departamento de Biología Aplicada
Grado en Biotecnología
Curso 2011-12

Hoja de respuestas a la serie 5 de problemas

Apellidos:														Nombre:											
13A					13B					13C					13D										
14A					14B					14C					14D										
14E					14F										14G										
14H														14I											
15A																									
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	
26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	
51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75	
76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90	91	92	93	94	95	96	97	98	99	100	
101	102	103	104	105	106	107	108	109	110	111	112	113	114	115	116	117	118	119	120	121	122	123	124	125	
126	127	128	129	130	131	132	133	134	135	136	137	138	139	140	141	142	143	144	145	146	147	148	149	150	
151	152	153	154	155	156	157	158	159	160	161	162	163	164	165	166	167	168	169	170	171	172	173	174	175	
176	177	178	179	180	181	182	183	184	185	186	187	188	189	190	191	192	193	194	195	196	197	198	199	200	
201	202	203	204	205	206	207	208	209	210	211	212	213	214	215	216	217	218	219	220	221	222	223	224	225	
226	227	228	229	230	231	232	233	234	235	236	237	238	239	240	241	242	243	244	245	246	247	248	249	250	
251	252	253	254	255	256	257	258	259	260	261	262	263	264	265	266	267	268	269	270	271	272	273	274	275	
276	277	278	279	280	281	282	283	284	285	286	287	288	289	290	291	292	293	294	295	296	297				

3'

15B**15C****15D**

Área de Genética
Universidad Miguel Hernández

Departamento de Biología Aplicada
Grado en Biotecnología
Curso 2011-12

Hoja de respuestas a la serie 6 de problemas

Apellidos:				Nombre:	
16A			16B		
16C			16D		
16E			16F		
16G			16H		
16I			16J		
16K			16L		
16M			16N		
16Ñ			16O		
16P		16R			
16Q					
17A	17B	17C	17D	17E	
17F					
18A	18B	18C			
18D			18E	18F	
18G			18H		
			18I		
18J			18K		18L

Área de Genética

Departamento de Biología Aplicada

Universidad Miguel Hernández

Grado en Biotecnología

Curso 2011-12

Hoja de respuestas a la serie 7 de problemas

Apellidos:	Nombre:
19A	
19B	

26

Área de Genética
Universidad Miguel Hernández

Departamento de Biología Aplicada
Grado en Biotecnología
Curso 2011-12

Hoja de respuestas a la serie 8 de problemas

Apellidos:		Nombre:	
22A	22B	22C	22D
	22E		22F
	22G		22H
	22I		22J
22K	23A		23B
23C	23D		23E
23F	23G		23H
23I	23J		23K
23L	23M	24A	24B
24C	24D		24E

24F	24G	24H
24I		

Área de Genética
Universidad Miguel Hernández

Departamento de Biología Aplicada
Grado en Biotecnología
Curso 2011-12

Hoja de respuestas a la serie 9 de problemas

Apellidos:					Nombre:				
25A									
25B			25C						
26A	26B	26C	26D	26E	26F	26G	26H	26I	26J
26K									
26L									
27A		27B							
27C									
27D									

Área de Genética
Universidad Miguel Hernández

Departamento de Biología Aplicada
Grado en Biotecnología
Curso 2011-12

Hoja de respuestas a la serie 10 de problemas

Apellidos:		Nombre:				
28A	28B					
28C						
29A	29B	29C	29D	29E	29F	29G
29H		29I		29J		
29K		29L		29M		
30A		30B		30C		
30D		30E		30F		
30G	30H					

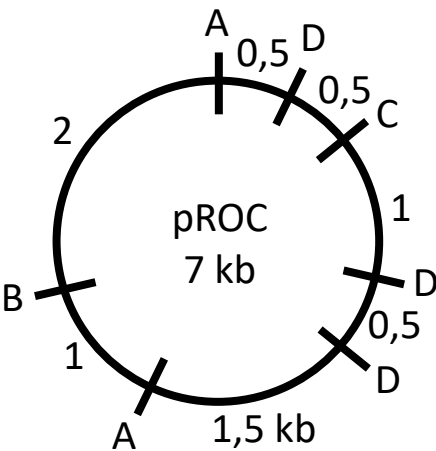
Área de Genética
Universidad Miguel Hernández

Departamento de Biología Aplicada
Grado en Biotecnología
Curso 2011-12

Hoja de respuestas a la serie Ejemplo 1 de problemas

Apellidos: <i>Apellido1 Apellido2</i>		Nombre: <i>Nombre</i>	
E1A <i>Menor</i>	E1B $2^{100} = 1,267 \cdot 10^{30}$ <i>secuencias</i>	E1C <i>3 puentes de hidrógeno</i>	
E2A $4,52 \cdot 10^{-15} \text{ g}$ $1,5 \cdot 10^{-3} \text{ m}$	E2B $1,15 \cdot 10^{-13} \text{ g}$ $4,25 \cdot 10^{-2} \text{ m}$	E2C <i>2.560 proteínas</i>	E2D <i>72.735 proteínas</i>

Hoja de respuestas a la serie 1 de problemas

Nombre:			
1A ADN monocatenario	1B $3/4 = 75\%$	1C U = G = 14,3%; C = 28,6%; A = 42,8%	1D A = 28,5%; C = 21,4%; T = 21,4%; G = 21,4%; U = 7,14%
1E a, c, d, e y g	1F 1 diana	1G 1 diana	1H DNasa I
1I Bal31	2A 		
3A La enz.1 es una polimerasa de ARN dependiente de ADN. La enz.2 es una polinucleótido fosforilasa.			
3B Incubar enz.2 en presencia de nucleótidos en diferentes proporciones relativas y comprobar su incorporación al ARN.			

Área de Genética
Universidad Miguel Hernández

Departamento de Biología Aplicada
Grado en Biotecnología
Curso 2011-12

Hoja de respuestas a la serie 2 de problemas

Apellidos:				Nombre:																										
4A ARN monocatenario		4B ADN bicatenario		4C La DNasa 2 es (a) una exonucleasa y el ADN Y es circular, (b) una nucleasa de ADN monocatenario y el ADN Y es bicatenario, (c)...																										
5A 				5C HbW1: Deleción del nucleótido 3' del codón de lys. HbCS: Sustitución de T por C en el codón de terminación.																										
5B <table border="0"> <tr> <td>Residuo</td> <td>141</td> <td>146</td> </tr> <tr> <td>HbA</td> <td>...ser-lys-tyr-arg-COOH</td> <td></td> </tr> <tr> <td></td> <td>AGY/TCN AAR TAC CGT TAA</td> <td></td> </tr> <tr> <td>HbW1</td> <td>...ser-asn-thr-val-lys-leu-glu-pro-arg-COOH</td> <td></td> </tr> <tr> <td></td> <td>AGY/TCN AAT ACC GTT AAG CTG GAG CCT CGG TAG</td> <td></td> </tr> <tr> <td>HbCS</td> <td>...ser-lys-tyr-arg-gln-ala-gly-ala-ser-val-ala...</td> <td></td> </tr> <tr> <td></td> <td>AGY/TCN AAR TAC CGT CAA GCT GGA GCC TCG GTA GCN</td> <td></td> </tr> </table>				Residuo	141	146	HbA	...ser-lys-tyr-arg-COOH			AGY/TCN AAR TAC CGT TAA		HbW1	...ser-asn-thr-val-lys-leu-glu-pro-arg-COOH			AGY/TCN AAT ACC GTT AAG CTG GAG CCT CGG TAG		HbCS	...ser-lys-tyr-arg-gln-ala-gly-ala-ser-val-ala...			AGY/TCN AAR TAC CGT CAA GCT GGA GCC TCG GTA GCN		5F Inserción de una G entre el codón de asn y el de ala. 5G Deleción del nucleótido 4 (la A 5' del primer codón de ser).					
Residuo	141	146																												
HbA	...ser-lys-tyr-arg-COOH																													
	AGY/TCN AAR TAC CGT TAA																													
HbW1	...ser-asn-thr-val-lys-leu-glu-pro-arg-COOH																													
	AGY/TCN AAT ACC GTT AAG CTG GAG CCT CGG TAG																													
HbCS	...ser-lys-tyr-arg-gln-ala-gly-ala-ser-val-ala...																													
	AGY/TCN AAR TAC CGT CAA GCT GGA GCC TCG GTA GCN																													
5D 5'-AARAGUCCAUCACUUA AUGCNGCNAAR-3'																														
5E 5'-AARGUCCAUCACUUA AUGCNGCNAAR-3'																														
6A 60°C	6B 60°C	6C 62°C	6D 64°C	6E 64°C	6F 58°C	6G 56°C	6H 66°C	6I 62°C	6J 60°C																					
6K 8,8·10 ⁻⁸	6L 9,09·10 ⁻⁵	6M Los cebadores hibridan con secuencias repetidas.				6N Complementariedad interna en el oligonucleótido C: A 5' -CGTGAGCTAG G 3' -GCACTCGATA C T																								
6Ñ Calle 4: Amplificación correcta. Producto de tamaño esperado.		6O Las Tm de los cebadores G y H son muy distintas.			6P Los oligonucleótidos I y J forman heterodímeros: 5' -GGGAATTCGCTCGCACATGT-3' 3' -CGTGTACACGTTTTATAGTGG-5'																									

Área de Genética
Universidad Miguel Hernández

Departamento de Biología Aplicada
Grado en Biotecnología
Curso 2011-12

Hoja de respuestas a la serie 3 de problemas

Apellidos:			Nombre:		
7A Fragmento Klenow de la ADNpol I de <i>Escherichia coli</i> , dCTP y dATP.			7B (1) Fosfatasa (fosfomonoesterasa) alcalina y (2) polinucleótido quinasa de T4 en presencia de [γ - ^{32} P]-dATP.		
7C Ligasa de T4 y acoplador <i>Bam</i> HI.			7D Ligasa de T4 o <i>Escherichia coli</i> y adaptador <i>Eco</i> RI: <i>Pst</i> I.		
7E Fosfatasa alcalina.			7F (1) Una nucleasa de cadena sencilla (Exo VII, S1...) y (2) ligasa de T4.		
7G (1) DNasa I en presencia de Mg ²⁺ , (2) ADNpol I de <i>Escherichia coli</i> , [α - ^{32} P]-dATP, dCTP, dGTP y dTTP, y (3) ligasa de T4.			7H (1) Ligasa de T4 y acoplador <i>Eco</i> RI, (2) <i>Eco</i> RI y (3) ligasa de T4 o <i>Escherichia coli</i> .		
8A Polimerasas termoestables y actividad desoxinucleotidil transferasa terminal.	8B OH en 3'	8C OH en 5'	8D Las colas A 3' del producto de PCR se unen por complementariedad a las colas T 3' del vector. La ligación del inserto y el vector genera una construcción con dos mellas distanciadas (los productos de PCR carecen de fosfatos en 5') que son reparadas por la célula hospedadora. Las células de las colonias blancas contienen un vector Amp ^R con un inserto que interrumpe el segmento <i>LacZ</i> α (<i>LacZ'</i>) del sitio de clonación múltiple, por lo que carecen de actividad β -galactosidasa.		
8E (a) La ligación de un inserto a un vector después de la desfosforilación de este último y (b) la tecnología TOPO producen construcciones con dos mellas muy distanciadas, que son reparadas después de la transformación por la célula hospedadora.					
8F La pérdida ocasional de las colas T 3' del vector permite su recircularización y no impide la complementación α , por lo que las células que incorporan un vector sin inserto cuentan con actividad β -galactosidasa.			9A 40 μ g/ml	9B De arriba abajo: mellado, lineal, circular covalentemente cerrado, superenrollado y circular monocatenario.	
9C La construcción tiene una sola diana <i>Sph</i> I y tres dianas <i>Bst</i> ZI. La digestión con <i>Sph</i> I lineariza la construcción (calle 3). Con <i>Bst</i> ZI rinde tres fragmentos, dos de ellos visibles: el vector y el inserto (calle 4).			9D 3.015 – (77 – 31) = 2.969 pb		
9F 5'-GGGCGAAUUGGGCCCGACGUCGCAUGCUGCCGCGCCGCAUGGCGGCCGCGGGAAUUCGAUU-3'					
9E <i>Spe</i> I, <i>Pst</i> I, <i>Sall</i> , <i>Nde</i> I, <i>Sac</i> I, <i>Bst</i> XI y <i>Nsi</i> I.	9G Los nucleótidos con digoxigenina de la sonda incrementan el peso molecular de esta y reducen su movilidad electroforética.		9H El sitio de clonación múltiple está totalmente incluido en la molécula de control (2.627 pb) pero solo parcialmente en el fragmento de restricción (2.495 pb).		

Hoja de respuestas a la serie 4 de problemas

Apellidos:				Nombre:			
10A 							
10B Sí	10C C	10D Sí	10E A	10F El individuo VI-5 de la familia venezolana parece ser recombinante. En la familia estadounidense el RFLP A parece estar ligado al alelo mutante en 13 individuos, aunque no en otros 5.			
11A Es homocigótico para el RFLP ligado al alelo causante de la enfermedad, por lo que probablemente la padecerá.				11B No es portador del RFLP ligado al alelo causante de la enfermedad, por lo que probablemente no la manifestará.			
11C La sonda C es la única que permite visualizar bandas que cosegregan con la enfermedad (que están presentes en todos los individuos enfermos y en ninguno de los sanos).				11D No, ya que no es portador del RFLP ligado al alelo causante de la enfermedad.			
11E No parece portadora del alelo causante de la enfermedad, ya que ha heredado de su padre el RFLP de 3 kb.		11F Es portadora del RFLP ligado al alelo causante de la enfermedad.		11G No padecerá la enfermedad ya que parece homocigótica para el alelo normal del gen causante de la enfermedad.			
12A Variaciones en el número de repeticiones en tándem (VNTR) y/o polimorfismos en la presencia de dianas de restricción, que causan RFLP.		12B La autorradiografía sugiere, pero no demuestra, que Andrew es hijo de Christiana, ya que su ADN da lugar a muchas bandas comunes con las de sus presuntas madre y hermanas, pero no con el individuo no emparentado.					

Área de Genética
Universidad Miguel Hernández

Departamento de Biología Aplicada
Grado en Biotecnología
Curso 2011-12

Hoja de respuestas a la serie 5 de problemas

Apellidos:													Nombre:											
13A 1.283.884						13B 449.358						13C 224.678						13D 25.676						
14A <i>AccI</i> (<i>Sall</i> , <i>HincII</i>) y <i>SacI</i>						14B <i>Apal</i> y <i>PstI</i>						14C 57,8°C						14D 60,4°C						
14E Ninguna horquilla en MADX						14F Ninguna horquilla en MADY						14G Un autodímero de MADX: 3' -G GGTCGACCATTACAGATTACAGATTACA ACATTAGACATTAGACATTACCAGCTGG G-3'												
14H Ningún autodímero de MADY													14I Ningún heterodímero entre MADX y MADY											
15A																								

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25
T	G	C	A	A	G	A	T	G	C	A	C	A	C	G	C	T	C	A	G	T	T	T	C	A
26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50
A	T	T	G	g	t	a	a	g	t	t	t	t	g	t	g	t	t	t	c	c	c	a	t	c
51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75
c	c	t	t	a	a	t	g	t	c	a	t	c	t	t	g	a	t	t	t	t	g	a	t	a
76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90	91	92	93	94	95	96	97	98	99	100
t	a	a	a	g	a	a	g	a	g	a	g	a	g	a	t	t	t	a	g	t	a	t	t	c
101	102	103	104	105	106	107	108	109	110	111	112	113	114	115	116	117	118	119	120	121	122	123	124	125
a	a	t	g	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t	g	t	t	t	t	g	g	g	a
126	127	128	129	130	131	132	133	134	135	136	137	138	139	140	141	142	143	144	145	146	147	148	149	150
t	a	t	t	g	t	a	g	T	T	C	C	C	C	C	T	G	C	A	T	A	T	T	A	T
151	152	153	154	155	156	157	158	159	160	161	162	163	164	165	166	167	168	169	170	171	172	173	174	175
G	C	A	C	A	T	C	T	A	G	C	A	G	C	T	T	T	T	A	G	G	G	C	T	C
176	177	178	179	180	181	182	183	184	185	186	187	188	189	190	191	192	193	194	195	196	197	198	199	200
G	A	T	T	C	T	A	C	A	T	G	G	A	G	C	C	A	G	A	G	A	C	A	T	C
201	202	203	204	205	206	207	208	209	210	211	212	213	214	215	216	217	218	219	220	221	222	223	224	225
A	G	A	C	A	G	T	G	G	C	T	C	A	A	T	G	G	C	T	A	G	T	G	G	G
226	227	228	229	230	231	232	233	234	235	236	237	238	239	240	241	242	243	244	245	246	247	248	249	250
A	G	C	A	T	G	G	C	A	C	G	T	G	G	A	G	G	T	G	G	A	A	T	G	G
251	252	253	254	255	256	257	258	259	260	261	262	263	264	265	266	267	268	269	270	271	272	273	274	275
C	T	G	G	T	A	G	A	A	G	C	A	C	A	C	G	C	G	G	G	C	C	T	A	A
276	277	278	279	280	281	282	283	284	285	286	287	288	289	290	291	292	293	294	295	296	297			
T	G	T	C	A	A	T	G	C	T	G	C	A	G	T	G	A	G	G	C	C	A	3'		

15B

CLUSTAL 2.1 multiple sequence alignment

```

ADNg_AGO1      TGCAAGATGCACACGCTCAGTTTCAATTGGTAAGTTTGTGTTTCCCATCCCTTAATGTC 60
ADNg_ago1-27   TGCAAGATGCACACGCTCAGTTTCAATTGGTAAGTTTGTGTTTCCCATCCCTTAATGTC 60
ADNg_1-52      TGCAAGATGCACACGCTCAGTTTCAATTGGTAAGTTTGTGTTTCCCATCCCTTAATGTC 60
ADNc_AGO1      TGCAAGATGCACACGCTCAGTTTCAATTG----- 29
ADNc_ago1-27   TGCAAGATGCACACGCTCAGTTTCAATTG----- 29
ADNc_ago1-52   TGCAAGATGCACACGCTCAGTTTCAATTGG----- 30
                *****
ADNg_AGO1      ATCTTGATTTTGTATATAAAGAAGAGAGAGATTTAGTATTCAATGTTTTTTTTTTTGTGTT 120
ADNg_ago1-27   ATCTTGATTTTGTATATAAAGAAGAGAGAGATTTAGTATTCAATGTTTTTTTTTTTGTGTT 120
ADNg_1-52      ATCTTGATTTTGTATATAAAGAAGAGAGAGATTTAGTATTCAATGTTTTTTTTTTTGTGTT 120
ADNc_AGO1      -----
ADNc_ago1-27   -----
ADNc_ago1-52   -----

ADNg_AGO1      TGGGATATTGTAGTTCCCCCTGCATATTATGCACATCTAGCAGCTTTTAGGGCTCGATTC 180
ADNg_ago1-27   TGGGATATTGTAGTTCCCCCTGCATATTATGCACATCTAGCAGCTTTTAGGGCTCGATTC 180
ADNg_1-52      TAGGATATTGTAGTTCCCCCTGCATATTATGCACATCTAGCAGCTTTTAGGGCTCGATTC 180
ADNc_AGO1      -----TTCCCCCTGCATATTATGCACATCTAGCAGCTTTTAGGGCTCGATTC 76
ADNc_ago1-27   -----TTCCCCCTGCATATTATGCACATCTAGCAGCTTTTAGGGCTCGATTC 76
ADNc_ago1-52   ----ATATTGTACTTCCCCCTGCATATTATGCACATCTAGCAGCTTTTAGGGCTCGATTC 86
                *****

ADNg_AGO1      TACATGGAGCCAGAGACATCAGACAGTGGCTCAATGGCTAGTGGGAGCATGGCACGTGGA 240
ADNg_ago1-27   TACATGGAGCCAGAGACATCAGACAGTGGCTCAATGGCTAGTGGGAGCATGGCACGTGGA 240
ADNg_1-52      TACATGGAGCCAGAGACATCAGACAGTGGCTCAATGGCTAGTGGGAGCATGGCACGTGGA 240
ADNc_AGO1      TACATGGAGCCAGAGACATCAGACAGTGGCTCAATGGCTAGTGGGAGCATGGCACGTGGA 136
ADNc_ago1-27   TACATGGAGCCAGAGACATCAGACAGTGGCTCAATGGCTAGTGGGAGCATGGCACGTGGA 136
ADNc_ago1-52   TACATGGAGCCAGAGACATCAGACAGTGGCTCAATGGCTAGTGGGAGCATGGCACGTGGA 146
                *****

ADNg_AGO1      GGTGGAATGGCTGGTAGAAGCACACGCGGGCCTAATGTCAATGCTGCAGTGAGGCCA--- 297
ADNg_ago1-27   GGTGGAATGGCTGGTAGAAGCACACGCGGGCCTAATGTCAATGCTGCAGTGAGGCCA--- 297
ADNg_1-52      GGTGGAATGGCTGGTAGAAGCACACGCGGGCCTAATGTCAATGCTGCAGTGAGGCCA--- 297
ADNc_AGO1      GGTGGAATGGCTGGTAGAAGCACACGCGGGCCTAATGTCAATGCTGCAGTGAGGCCACTC 196
ADNc_ago1-27   GGTGGAATGGCTGGTAGAAGCACACGCGGGCCTAATGTCAATGCTGCAGTGAGGCCACTC 196
ADNc_ago1-52   GGTGGAATGGCTGGTAGAAGCACACGCGGGCCTAATGTCAATGCTGCAGTGAGGCCACTC 206
                *****

ADNg_AGO1      -----
ADNg_ago1-27   -----
ADNg_1-52      -----
ADNc_AGO1      CCAGCTCTGAAAGAGAATGTGAAGCGTGTTCATGTTCTACTGTTGACTACTGCTGAGTTGA 256
ADNc_ago1-27   CCAGCTCTGAAAGAGAATGTGAAGCGTGTTCATGTTCTACTGTTGACTACTGCTGAGTTGA 256
ADNc_ago1-52   CCAGCTCTGAAAGAGAATGTGAAGCGTGTTCATGTTCTACTGTTGACTACTGCTGAGTTGA 266

ADNg_AGO1      -----
ADNg_ago1-27   -----
ADNg_1-52      -----
ADNc_AGO1      TTTACCCTCTATCTATCTTTATGAGTTGATTAC 290
ADNc_ago1-27   TTTACCCTCTATCTATCTTTATGAGTTGATTAC 290
ADNc_ago1-52   TTTACCCTCTATCTATCTTTATGA----- 290

```

15C

```

AGO1      ARCTRSVSIVPPAYYAHLAAFRRARFYMEPETS DSGSMASGSMARGGGMAGRSTRGPNVNAA
AGO1-27   ARCTRSVSIVPPAYYAHLAAFRRARFYMEPETS DSGSMASGSMARGGGMAGRSTRGPNVNAA
AGO1-52   ARCTRSVSIGYCTSPCILTSSSF*

```

```

AGO1      VRPLPALKENVKRVMFYC*
AGO1-27   VRPLPALKENVKRVMFYC*

```

15D ago1-27: C→T en la posición 173, que cambia A por V en la proteína AGO1-27.

ago1-52: G→A en la posición 122, que crea un nuevo aceptor del *splicing*, por lo que 10 nucleótidos del intrón no son eliminados, apareciendo 15 aminoácidos nuevos y un codón de terminación que hace que la proteína mutante AGO1-52 tenga 53 aminoácidos menos que la silvestre.

Área de Genética
Universidad Miguel Hernández

Departamento de Biología Aplicada
Grado en Biotecnología
Curso 2011-12

Hoja de respuestas a la serie 6 de problemas

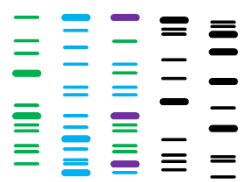
Apellidos:			Nombre:																																																																																																									
16A El gen <i>URA3</i> de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> codifica la orotidina-5'-fosfato descarboxilasa, que participa en la ruta de síntesis <i>de novo</i> de las pirimidinas.			16B Las mutaciones <i>ura3-</i> causan auxotrofia a la uridina o el uracilo. Los vectores portadores del gen <i>URA3</i> se utilizan con hospedadores <i>ura3-</i> . La selección se realiza en medio de cultivo sin uridina o uracilo.																																																																																																									
16C El gen <i>TRP1</i> de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> codifica la fosforribosilantranilato isomerasa, que participa en la ruta de síntesis del triptófano.			16D Las mutaciones <i>trp1-</i> causan auxotrofia al triptófano. Los vectores portadores del gen <i>TRP1</i> se utilizan con hospedadores <i>trp1-</i> . La selección se realiza en medio de cultivo sin triptófano.																																																																																																									
16E El gen <i>HIS3</i> de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> codifica la imidazolglicerol-fosfato deshidratasa, que participa en la ruta de síntesis de la histidina.			16F Las mutaciones <i>his3-</i> causan auxotrofia a la histidina. Los vectores portadores del gen <i>HIS3</i> se utilizan con hospedadores <i>his3-</i> . La selección se realiza en medio sin histidina.																																																																																																									
16G El gen <i>ampR</i> de <i>Escherichia coli</i> codifica una β -lactamasa que degrada las penicilinas.			16H Los vectores portadores del gen <i>ampR</i> se utilizan con hospedadores Amp ^S . La selección se realiza en medio con ampicilina.																																																																																																									
16I <i>Saccharomyces cerevisiae</i> .			16J <i>Saccharomyces cerevisiae</i> .																																																																																																									
16K <i>Saccharomyces cerevisiae</i> .			16L <i>Escherichia coli</i> .																																																																																																									
16M <i>ARS1</i> es un origen de replicación de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> .			16N <i>CEN4</i> es un centrómero de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> .																																																																																																									
16Ñ <i>TEL</i> es un telómero de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> .			16O <i>pMB1 ori</i> es un origen de replicación operativo en <i>Escherichia coli</i> .																																																																																																									
16P Es un YAC.	16R Se deben cultivar las levaduras transformantes primero en un medio de cultivo A con triptófano y sin uridina ni histidina, y después hacer plaqueo de réplica a un medio B sin triptófano, uridina ni histidina. Las colonias que crezcan en A pero no en B contienen el vector con el inserto.																																																																																																											
16Q Sí.																																																																																																												
17A 7.874.880	17B 200	17C 1.640.600	17D II-6F	17E Es un artefacto (un falso positivo).																																																																																																								
17F <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th></th> <th colspan="12" style="text-align: center;">Marcador</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>YAC</td> <td>(2631</td> <td>63)</td> <td>(210</td> <td>6892)</td> <td>1071</td> <td>(5192</td> <td>719)</td> <td>(6193</td> <td>991)</td> <td>714</td> <td>(3087</td> <td>4630</td> <td>522)</td> <td>713</td> </tr> <tr> <td>II-6A</td> <td colspan="14" style="text-align: center;">—————</td> </tr> <tr> <td>IV-3C</td> <td colspan="14" style="text-align: center;">—————</td> </tr> <tr> <td>X-9H</td> <td colspan="14" style="text-align: center;">—————</td> </tr> <tr> <td>VII-12E</td> <td colspan="14" style="text-align: center;">—————</td> </tr> <tr> <td>I-8C</td> <td colspan="14" style="text-align: center;">—————</td> </tr> </tbody> </table>							Marcador												YAC	(2631	63)	(210	6892)	1071	(5192	719)	(6193	991)	714	(3087	4630	522)	713	II-6A	—————														IV-3C	—————														X-9H	—————														VII-12E	—————														I-8C	—————													
	Marcador																																																																																																											
YAC	(2631	63)	(210	6892)	1071	(5192	719)	(6193	991)	714	(3087	4630	522)	713																																																																																														
II-6A	—————																																																																																																											
IV-3C	—————																																																																																																											
X-9H	—————																																																																																																											
VII-12E	—————																																																																																																											
I-8C	—————																																																																																																											
18A Lineal.	18B Solo se usa un cebador.	18C La intensidad de la señal de L2_450_3R desciende progresivamente. La de 7_C09 se interrumpe bruscamente.																																																																																																										
18D La longitud de 7_C09 es unas 550 pb. L2_450_3R tiene al menos 830 pb.			18E 7_C09	18F Tiene una longitud definida y una A en su extremo 3'.																																																																																																								
18G No, porque no son sintetizados durante la reacción de secuenciación.			18H ---		18I Sí																																																																																																							
18J 5'-ACGAGCAAATTGAATTGGT-3'			18K Actividad transferasa terminal de la polimerasa termoestable.		18L Es ADN de un heterocigoto para una mutación puntual.																																																																																																							

Área de Genética
Universidad Miguel Hernández

Departamento de Biología Aplicada
Grado en Biotecnología
Curso 2011-12

Hojas de respuestas a la serie 7 de problemas

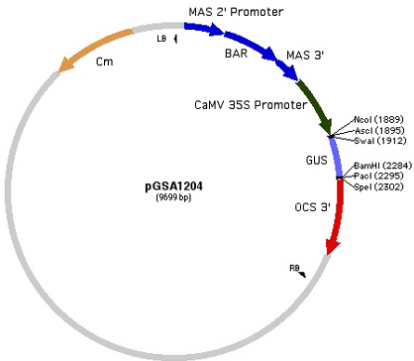
Apellidos:		Nombre:	
19A Son cuatro diferentes moléculas de ARNm, obtenidas por <i>splicing</i> alternativo a partir de un solo gen: <i>INDY</i> . Cada una de ellas rinde, al traducirse, una isoforma de la proteína INDY.			
19B			
<u>GENE ID: 65202 Slc13a2</u> solute carrier family 13 (sodium-dependent dicarboxylate transporter), member 2 [Rattus norvegicus] (10 or fewer PubMed links)			
Score = 325 bits (833), Expect = 3e-98 Identities = 213/555 (38%), Positives = 333/555 (60%), Gaps = 37/555 (7%) Frame = +3			
Query	393	EFRCMYLLLLVMAIFVWTEALPLYVTSMIPVAFPIMGIMSSDQTCRLYFKDTLVMFMGGI	572
		E C Y +++MA+ W TEALPL VT++ PIV FP+MGIM + + C YFKDT ++F+GG+	
Sbjct	35	EAYCAYSIIIMALLWCTEALPLAVTALFPVLFPLMGIMDASEVCIEYFKDTNILFVGGL	94
Query	573	MVALAVEYCNLHKRLALRVIQIVGCSPRRLHFGLIMVTMFLSMWISNAACTAMMCPIIQA	752
		MVA+AVE+ NLHKR+AL+V+ I+G P L G ++VT FLSMWISN A TAMM PI A	
Sbjct	95	MVAIAVEHWNLHKRIALQVLLIIGVRPALLLLGFMLVTAFLSMWISNTATTAMVPIGHA	154
Query	753	VLEELQA--QGVCKINHEPQYQIV-----GGNKKNNEDEP-----PYPT	863
		VLE+LQ + V N+ P +++ G + EP +	
Sbjct	155	VLEQLQGSKKDVEGGNNNPTFELQEECPQKEVTKLDNGQPVSAPEPRTQKTQEHHRFSQ	214
Query	864	KITLCYYLGIAYASSLGCGTIIGTATNLTFKGIYEARFKNSTEQMDFPFTFMFYSPSML	1043
		++LC I Y++S+GG T+ GT NL +G + F + ++F ++ ++ P+M+	
Sbjct	215	GLSLC----ICYSASIGGIATLTGTTPNLVLQGVNSLFPQNGNVNFFASWFGFAFPTMI	270
Query	1044	VYTLLTFVFLQWHFMGLWRPKSKEAQEVQREGADVAKKVIDQRYKDLGPMSIHEIQVM	1223
		+ LL +++LQ F+G+ K+ E + R+ A A +VI +Y+ LGPMS E V	
Sbjct	271	ILLLLLAWLWLQVFLGVNFRKNFGFGEGERKQA--AFQVIKTQYRLLGPMSEFAEKTVT	328
Query	1224	ILFIFMVVMYFTRKPGIFLGWADLLNSKDIRNSMPT-----IFVVVMCFMLPANYAFLRY	1388
		+LF+ +VV++FTR+PG F GW D + + + SM + IF+ ++ F++P+ L	
Sbjct	329	VLFVLLVVLWFTREPFGFFPGWGDVTFANEKGQSMASDGTVAIFISLVMFIIPSKIPGL--	386
Query	1389	CtrrrggpvptgptpsLITWKFIQTKVPWglvllgggfaLaEGSKQSGMAKLIGNALIGL	1568
		P P+++TWK + K+PW +V LLGGGFALA+GS+QSG+++ +G+ L L	
Sbjct	387	MQDPKKPGKLKAPPAILTWKTVNDKMPWNIVILLGGGFALAKGSEQSGLSEWLGDKLTP	446
Query	1569	kvlpnsvlllvvilvavflTAFSSNVAIANIIPVLAEMSLAIEIHPLYLILPAGLACSM	1748
		+ +P S +++ L+ T +SNVA + +P+LA M+ AI +HPLY++LP LA S+	
Sbjct	447	QHIPPSSATAVILCLLIAIFTECTSNVATTTFLPILASMAQAICLHPLYVMLPCTLAASL	506
Query	1749	AFHLPVSTPPNALVAGYANIRTKDMAiagigpttiitiitLFVFCQTWGLVVYPNLNSFPE	1928
		AF LPV+TPPNA+V + ++ DMA AG II ++ + + +W + ++ L++FP	
Sbjct	507	AFMLPVATPPNAIVFSFGGLKVSDMARAGFLLNIIGVLAITLSINSWSIPIF-KLDTFPS	565
Query	1929	WAQIYAAAALGNKTH 1973	
		WA + L N ++	
Sbjct	566	WAHSNTSOCLLNPSN 580	

19C 5'-TT(TC)(TC)TN(TA)(CG)NATGTGGAT(TCA)(TA)(CG)N-3' 5'-NGC(AG)AANCCNCCNCCNA(AG)NA(AG)-3'		
20A Sí.	20B Tanto el padre como la madre son heterocigóticos para el RFLP ligado al alelo mutante del gen de la fibrosis quística. El feto parece homocigótico para el alelo mutante, por lo que padecerá la enfermedad.	
20C (1) Extracción de ADN genómico, para (2) su amplificación por PCR con los cebadores al1 y al2, (3) digestión de los productos de amplificación con <i>Tsp45I</i> , y (4) electroforesis de los fragmentos de restricción en un gel de agarosa teñido con bromuro de etidio para determinar el genotipo de cada individuo en base a las bandas que aparezcan.		
20D Dos bandas, de unas 160 y 40 pb.	20E Una sola banda, de 200 pb.	20F Tres bandas, de unas 200, 160 y 40 pb, de menor grosor que las de 20D y 20E.
20G Sería necesario (1) extraer ARN total del tejido a estudio, (2) retrotranscribirlo a ADNc con una retrotranscriptasa y oligo(dA) _n , (3) amplificar el ADNc mediante PCR, empleando los cebadores al1 y al2, (4) digerir los productos de amplificación con <i>Tsp45I</i> , y (5) someter a electroforesis los fragmentos de restricción en un gel de agarosa teñido con bromuro de etidio. La aparición de bandas de 160 y 40 pb demostraría la transcripción del alelo mutante.		
21A Sí.	21B Ninguna de las bandas de la huella de Sarah se observa en las de Eric o Kristin. Puede afirmarse categóricamente que Betty no es hija de Eric y Kristin Neman. 	
21C Sí.		
21D No.		
21E Todas las bandas de la huella molecular de Betty Neman corresponden a alguna del padre o la madre de Sarah Sting. Es muy probable, aunque no absolutamente seguro, que Betty Neman sea Sarah Sting.		

Área de Genética
Universidad Miguel Hernández

Departamento de Biología Aplicada
Grado en Biotecnología
Curso 2011-12

Hojas de respuestas a la serie 8 de problemas

Apellidos:		Nombre:	
22A 	22B Sí.	22C Km: Gen de resistencia a kanamicina (marcador seleccionable en <i>Escherichia coli</i> y en plantas).	22D Cm: Gen de resistencia a cloramfenicol (marcador seleccionable en <i>Escherichia coli</i>).
		22E Hyg: Gen de resistencia a higromicina (marcador seleccionable en <i>Escherichia coli</i> y en plantas).	22F GUS: Gen testigo, que codifica la β -glucuronidasa.
		22G Bar: Gen de resistencia al herbicida BASTA (marcador seleccionable en plantas).	22H OCS 3': Señal de poliadenilación de <i>Agrobacterium tumefaciens</i> .
		22I CaMV 35S: Promotor del virus del mosaico de la coliflor (muy eficaz para la transcripción en plantas).	22J LB: Borde izquierdo del ADN-T del plásmido Ti de <i>Agrobacterium tumefaciens</i> (inserción en genomas de plantas).
	22K RB: Borde derecho del ADN-T del plásmido Ti de <i>Agrobacterium tumefaciens</i> (inserción en genomas de plantas).	23A CMV: Promotor del citomegalovirus (muy eficaz para la transcripción en células de los mamíferos).	23B attB1: Secuencia que reconoce la integrasa Int de λ en la reacción BP de recombinación Gateway.
23C NotI: Diana de NotI, una endonucleasa de restricción de tipo II.	23D XbaI: Diana de XbaI, una endonucleasa de restricción de tipo II.	23E BamHI: Diana de BamHI, una endonucleasa de restricción de tipo II.	
23F attB2: Secuencia que reconoce la integrasa Int de λ en la reacción BP de recombinación Gateway.	23G ApaI: Diana de ApaI, una endonucleasa de restricción de tipo II.	23H SV40: Promotor del SV40 (muy eficaz para la transcripción en células de los mamíferos).	
23I Neomycin: Gen de la neomicina fosfotransferasa (causa resistencia a neomicina).	23J SV40 pa: Señal de poliadenilación de SV40.	23K ColE1 ori: Origen de replicación operativo en <i>Escherichia coli</i> .	
23L Ampicillin: Gen de resistencia a ampicilina (marcador seleccionable en bacterias).	23M Sí.	24A No.	24B P _{lac} : Promotor del operón <i>lac</i> .
24C lacZ α : segmento del gen <i>lacZ</i> que codifica el péptido α .	24D MCS: Sitio de clonación múltiple.	24E Kanamycin: Gen de resistencia a kanamicina (marcador seleccionable en bacterias y plantas).	

24F Zeocin: Gen de resistencia a zeocina (marcador seleccionable en células hospedadoras eucarióticas y procarióticas).	24G pUC ori: Origen de replicación en <i>Escherichia coli</i> de los plásmidos de la serie pUC.	24H El gen <i>ccdB</i> codifica una proteína que resulta tóxica para la gran mayoría de las estirpes de <i>Escherichia coli</i> . La incorporación de un inserto al sitio de clonación múltiple de pCR-Blunt II-TOPO interrumpe y desfasa la pauta de lectura de <i>lacZα</i> , y desfasa o impide la traducción de <i>ccdB</i> .
24I Porque si los oligonucleótidos presentan un fosfato en sus extremos 5' también lo tendrán los productos de PCR que generen, que no podrán formar un puente fosfodiéster con el fosfato 3' del vector, que está unido covalentemente a la topoisomerasa.		

Área de Genética
Universidad Miguel Hernández

Departamento de Biología Aplicada
Grado en Biotecnología
Curso 2011-12

Hoja de respuestas a la serie 9 de problemas

Apellidos:					Nombre:				
25A El mapa representa la recombinación, mediante una reacción LR, entre dos construcciones obtenidas a partir de vectores Gateway. Una de las construcciones contiene el inserto GOI (Genes Of Interest) en el vector de entrada pCR8/GW. La otra contiene los marcadores <i>Cm^R</i> y <i>ccdB</i> en el vector de destino pBBE22gate. La recombinación LR sustituye el inserto <i>CmR-ccdB</i> por el GOI, obteniéndose la construcción pBBE22gate+GOI, que se utiliza para transformar células hospedadoras Kan^S, Zeo^S y CcdB^S. Los transformantes pueden seleccionarse en medio de cultivo suplementado con kanamicina y/o zeomicina. Las bacterias que hayan incorporado pBBE22gate no generarán colonias como consecuencia de la toxicidad de la proteína <i>ccdB</i>.									
25B Sí.		25C Cm ^S , CcdB ^R , Kan ^S y Zeo ^S .							
26A 21	26B 24	26C 28	26D 32	26E 37	26F 209.715	26G 13.107	26H 1.638	26I 102	26J 6
26K Porque se alcanza la fase de meseta de la reacción de amplificación como consecuencia de la disminución de la concentración de los sustratos y de la actividad de la polimerasa termoestable.									
26L Dado que se trata de una determinación realizada en sangre, que contendrá ADN del paciente y de cualquier otro virus, si lo hubiera, es preferible una sonda TaqMan, que evidenciará únicamente la amplificación del genoma del virus a estudio.									
27A Sí.		27B Porque los ARNm del gen a estudio son de diferente longitud en el hígado y el cerebro, como consecuencia de la existencia de <i>splicing</i> alternativo.							
27C Porque la variante de ARNm que produce el gen a estudio en el hígado contiene algún exón que no está presente en la variante del cerebro. Este exón diferencial contiene una diana E y otra H.									
27D Porque en el Southern se visualizan fragmentos de restricción del ADN genómico. Estos fragmentos contienen intrones (que no están presentes en el ADNc) y son productos de la digestión de las dianas de restricción de la parte codificante de la unidad de transcripción del gen a estudio y de las del ADN genómico adyacente. Estas últimas dianas no están presentes en el ADNc.									

Área de Genética

Departamento de Biología Aplicada

Universidad Miguel Hernández

Grado en Biotecnología

Curso 2011-12

Hoja de respuestas a la serie 10 de problemas

Apellidos:		Nombre:				
28A FOXA3-ADNc y pBeloBAC11.	28B Será necesario amplificar por PCR la parte del inserto de pBeloBAC11 que contiene la región genómica comprendida entre el extremo 5' de la unidad de transcripción de <i>APOA2</i> y la del gen adyacente, a fin de disponer de solo una molécula de poca longitud para tratarla con DNasa I.					
28C Las lecturas acumuladas corresponden al segmento del promotor del gen <i>APOA2</i> al que se une el factor de transcripción FOXA3. Son lecturas de fragmentos de ADN genómico que estaban unidos a FOXA3, razón por la que pudieron ser inmunoprecipitados con un anticuerpo antiFOXA3.						
29A Corresponden a los ARNr 28S (banda de arriba) y 18S (la de abajo).	29B Al segundo (ARNr 18S) y al tercer pico (28S), de izquierda a derecha.	29C 1	29D 2-6	29E 7-11	29F 4-5	29G 6-11
29H <i>Abcb1a, Itga4, Cbfa21th y Runx1.</i>	29I <i>Selp, Osmr, Flt3/Flk2, Cebp-d, Hoxb6 y Pbx3.</i>			29J <i>Alcam y Pml.</i>		
29K El color rojo claro indica sobreexpresión, y el verde claro, represión. Los genes que no muestran diferencias de expresión se representan en negro.	29L No, porque algunos genes muestran niveles de expresión opuestos en dos o más muestras de ratones de la misma edad.			29M <i>Blnk, Satb1, Sox4, Vpreb1, Edg1, Fyb, Amp3, Fgfr1, Osmr, Plscr2, Rab27b y Ucp2.</i>		
30A En el riñón podrían existir cuatro variantes, con la siguiente composición de exones: 12345, 135, 1235 y 1345.	30B En el hígado existen dos variantes, con la siguiente composición de exones: 1345 y 2345.			30C La composición de exones de la variante más abundante en el riñón es 1345.		
30D La composición de exones de la variante más abundante en el hígado es 1345.	30E Unas 1.200 pb.			30F Unas 1.200 pb.		
30G <i>Splicing</i> alternativo.	30H Puede tratarse de lecturas (a) de ADN genómico contaminante, que no había sido eliminado totalmente durante el aislamiento del ARNm, o (b) de transcritos primarios que en el momento de la extracción de ARN no habían sufrido aún el <i>splicing</i> .					

Problemas

1.- La composición de una molécula monocatenaria de ARN de 10^6 nt de longitud es del 20% en A, 25% en C, 25% en U, y 30% en G. Si la secuencia de dicha molécula se hubiese generado al azar, ¿cuántas veces cabría esperar que contuviera el segmento 5'-GUUA-3'? Responde en 1A.

Dos moléculas bicatenarias de ADN de una población de fagos T2 de *Escherichia coli* fueron desnaturalizadas por calentamiento, obteniéndose las siguientes moléculas monocatenarias: M1 (5'-TAGCTCC-3'), M2 (5'-GGAGCTA-3'), M3 (5'-GCTCCTA-3') y M4 (5'-TAGGAGC-3'). Representa en 1B con el máximo grado de detalle posible las moléculas bicatenarias que contendrá la disolución tras su enfriamiento a 25°C.

Indica en 1C cuáles de las siguientes relaciones entre bases son iguales a 1 en el ADN bicatenario: A/C; G/T; A/T; G/C; (A+T)/(G+C); (A+G)/(C+T); y (G+T)/(A+C). Si el contenido en citosina de una molécula bicatenaria de ADN es del 17%, ¿cuál es el de adenina? Responde en 1D.

2.- Se aisló ADN del plásmido pEZY mediante una minipreparación realizada a partir de un cultivo de *Escherichia coli* DH5 α , tomando una alícuota para someterla a electroforesis en un gel de agarosa teñido con bromuro de etidio. Las bandas así obtenidas se visualizaron y fotografiaron en un documentador de geles con el resultado que muestra la calle P de la Figura 2. Se realizaron digestiones simples y dobles de otras alícuotas del ADN plasmídico con las endonucleasas de restricción *NarI*, *AccI*, *EcoRI* y *BamHI* (las secuencias de sus dianas pueden encontrarse en Internet). Se añadió ligasa de T4 a los fragmentos de restricción obtenidos de la digestión doble realizada con *NarI* y *AccI* y se obtuvieron las moléculas representadas en la calle Lig de la Figura 2. Utilizando la información que aporta la Figura 1, interpreta la Figura 2 dibujando en 2A un mapa circular de pEZY, y explicando en 2B y 2C, respectivamente, a qué corresponden las bandas de las calles P y Lig. No se requiere para resolver este problema una precisión superior a 0,5 kb.

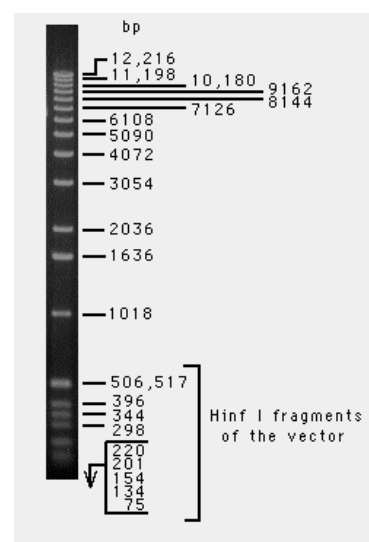


Figura 1.- Tamaño (en pb) de las moléculas del marcador de peso molecular 1 kb DNA Ladder de Invitrogen.

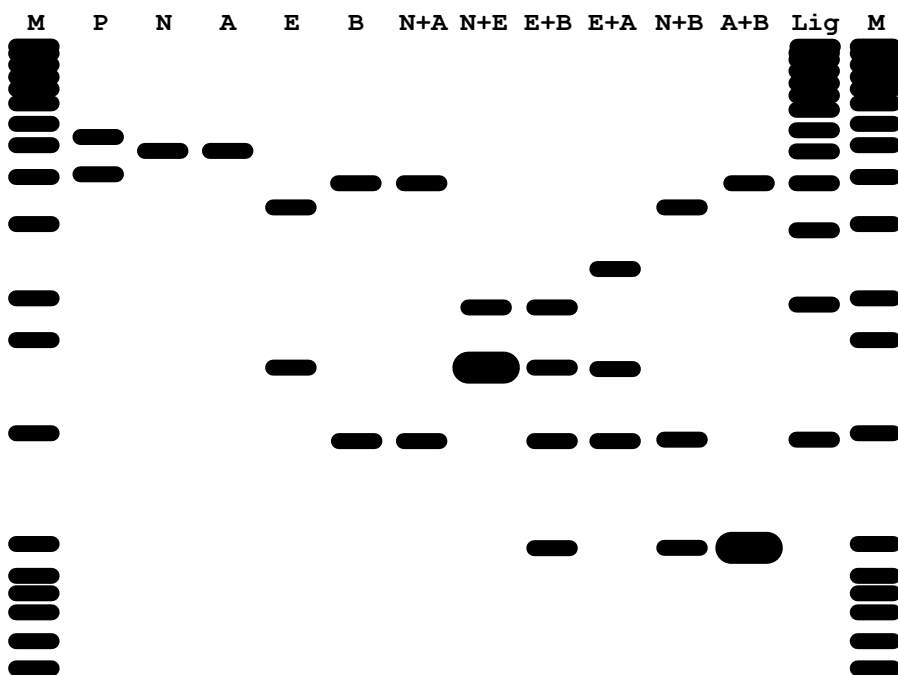


Figura 2.- Visualización de los fragmentos de restricción de pEZY obtenidos tras su digestión con las enzimas *NarI* (N), *AccI* (A), *EcoRI* (E) y *BamHI* (B). M: marcador de peso molecular (1 kb DNA Ladder de Invitrogen). P y Lig: véase el enunciado del problema 2.

3.- Las moléculas bicatenarias que se representan en la Figura 3 tienen grupos fosfato en sus extremos 5', e hidroxilos en los 3'. Indica qué enzimas emplearías y en qué orden, y en su caso, en qué condiciones y con qué sustratos adicionales, para: convertir en romos los extremos de la molécula A (responde en 3A); circularizar B, generando una molécula covalentemente cerrada (en 3B); cortar C obteniendo dos fragmentos, cada uno de ellos con un grupo metilo (en 3C); reparar D, haciéndola perfectamente bicatenaria (en 3D); introducir mellas al azar en E (en 3E), y a continuación repararlas (en 3F); y eliminar una u otra de las dos cadenas de F (en 3G y 3H).

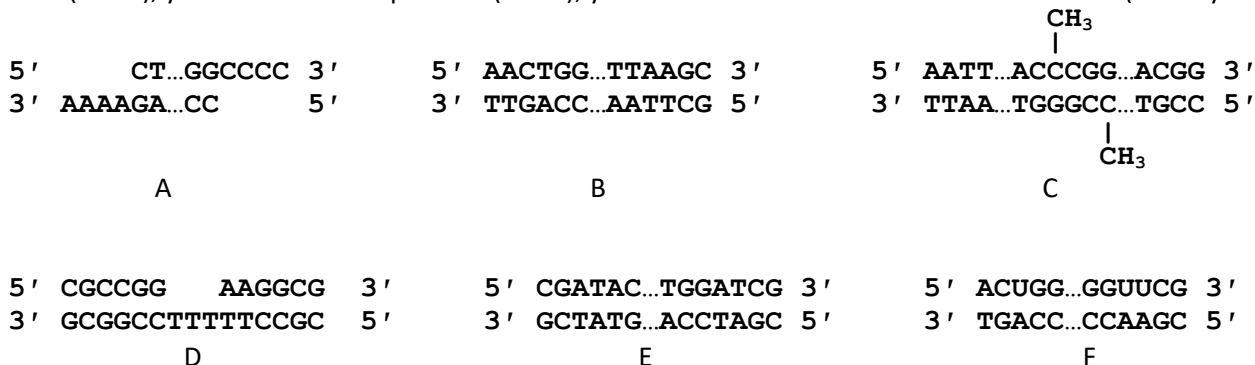


Figura 3

4.- Se representa en la Figura 4 parte de la secuencia de una de las dos cadenas de una molécula de ADN lineal. Indica en 4A y 4B las secuencias de los dos oligonucleótidos sintéticos de 20 nt que se deben emplear como cebadores para la amplificación mediante PCR del segmento destacado en rojo, representando en ambos casos su extremo 5' a la izquierda y el 3' a la derecha. Indica sus respectivas Tm en 4C y 4D. Propón en 4E un programa de termociclaje para la amplificación de esta molécula con una polimerasa *Taq* que sintetiza ADN a razón de 500 nt por minuto. La visualización de los productos de amplificación en un gel de agarosa teñido con bromuro de etidio reveló la presencia de una molécula de 34 pb. Propón en 4F una hipótesis que explique su aparición.

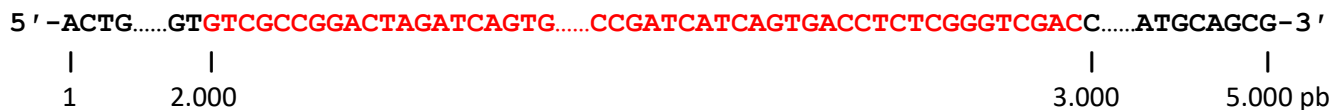
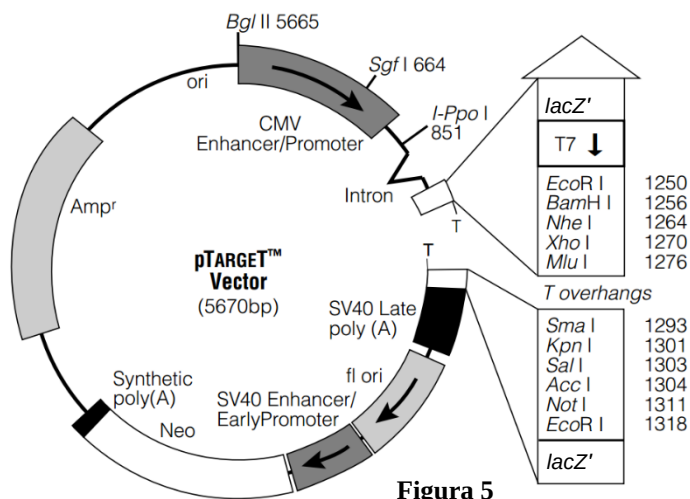
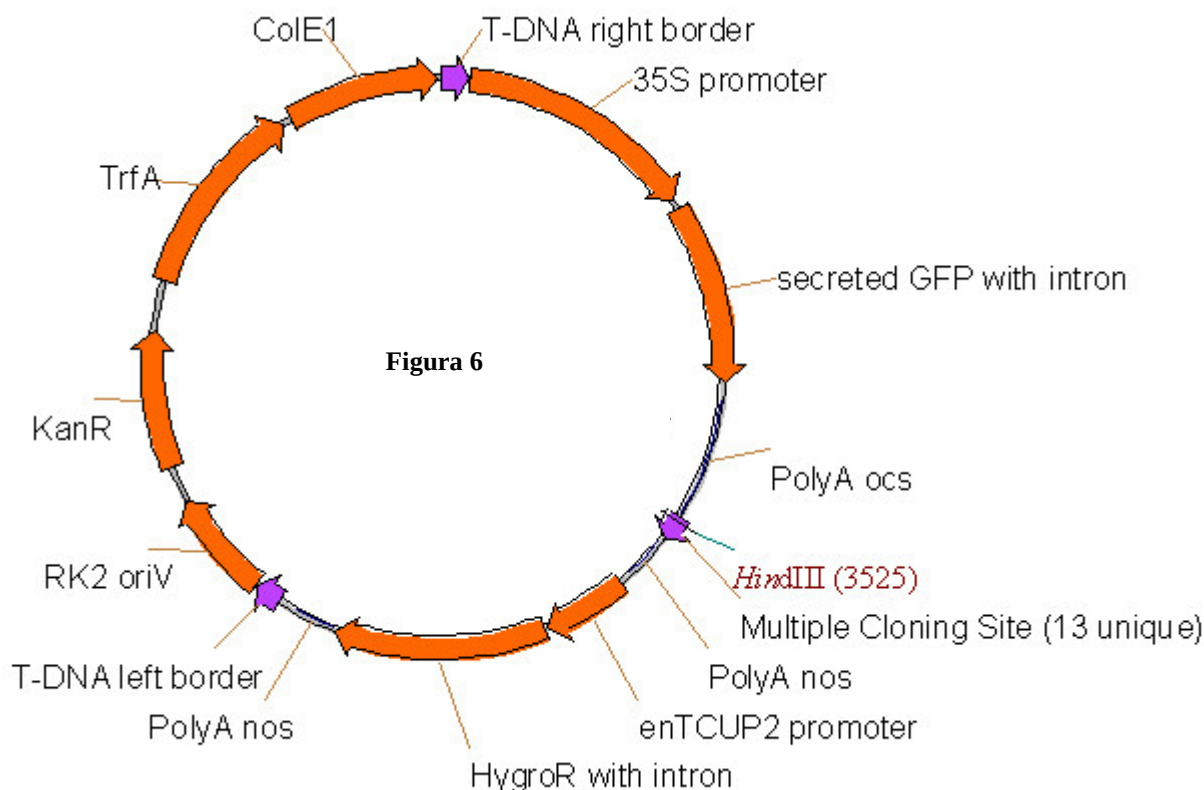


Figura 4

5.- Interpreta el mapa del vector que se representa en la Figura 5 explicando la función natural (actividad enzimática del producto génico) y el uso en Ingeniería Genética (especificando la parte relevante del genotipo de las células hospedadoras y de la composición del medio de cultivo) de los genes *Amp^R* (en 5A y 5B), *Neo* (5C y 5D) y *lacZ'* (5E y 5F). Indica en 5G si los extremos del vector con una T sobresaliente son 3' o 5' y explica en qué te basas para afirmarlo. ¿Qué tipo de vector es el de la Figura 5? ¿Es un vector lanzadera? ¿En qué células hospedadoras (de qué especie) puede replicarse este vector? Responde en 5H, 5I y 5J, respectivamente.

**Figura 5**

6.- Interpreta el mapa del vector que se representa en la Figura 6, explicando sucintamente en 6A-6G la función de las secuencias denominadas Cole1, T-DNA right border, 35S promoter, Multiple Cloning Site, HygroR, T-DNA left border y KanR, respectivamente.



7.- Se realizaron tres reacciones en tubos separados, en cada una de las cuales se empleó a 37°C ADNpol I de *Escherichia coli*, 5'-ATG-3' como cebador, una mezcla equimolecular de dATP, dCTP, dGTP y dTTP, y las moléculas bicatenarias siguientes como moldes:

5' -GGGGGGGGGGGGTA-3'

3' -CCCCCCCCCCCCAT-5'

A

5' -ATTCGTACGTACCAT-3'

3' -TAAGCATGCATGGTA-5'

B

5' -ATTATGAAAAAAAA-3'

3' -TAATACTTTTTTTT-5'

C

Indica en 7A qué tratamiento previo a su utilización como moldes requieren estas moléculas bicatenarias; en 7B-7D, las secuencias nucleotídicas de los productos de síntesis que se obtendrán en cada una de las tres reacciones, respectivamente; en 7E-7M, si se obtendrá ADN marcado, y por qué, utilizando como molde A, B o C, y [α - ^{32} P]-dATP (en 7E-7G, respectivamente), [γ - ^{32} P]-dATP (en 7H-7J, respectivamente) o [^{32} P]-dAMP (en 7K-7M, respectivamente) en lugar de dATP. ¿Cuál será el producto más radiactivo de todos los obtenidos? Responde razonadamente en 7N.

8.- El producto de amplificación por PCR cuya secuencia se recoge en el archivo "[Problema8IG2012-13.txt](#)" depositado en la página web de la asignatura fue alicuotado para obtener construcciones de dos modos distintos: (1) una alícuota fue mezclada con el vector pCRII-TOPO, y (2) la otra fue digerida con dos endonucleasas de restricción para después mezclarla con el vector pBluescript II SK (+) previamente digerido con las mismas restrictasas, para a continuación ligarlos. Indica en 8A el tamaño, en pares de bases (pb), de la construcción obtenida al insertar el producto de amplificación en pCRII-TOPO. Indica en 8B si la obtención de esta construcción lleva asociada la pérdida de parte del vector, y en su caso, cuál es la longitud del fragmento que se pierde, en pb (en 8C). Explica en 8D-8U, para cada una de las 19 restrictasas (debe tenerse en cuenta solo una enzima de cada grupo de isosquizómeros que corten su diana del mismo modo) cuyas dianas están presentes en el sitio de clonación múltiple de pBluescript II SK (+), si puede usarse para clonar el producto de amplificación antes mencionado. En caso afirmativo, indica en combinación con qué otra endonucleasa de restricción deberían digerirse el producto de amplificación y el vector, y qué longitud tendría el inserto tras la ligación.

9.- Se diseñaron y sintetizaron dos oligonucleótidos (UMHa: 5'-ATGTTCTGGTTGCGTGAAC-3' y UMHb: 5'-CATGACGTAAATGCACGCGA-3') para utilizarlos como cebadores en la amplificación por PCR de una molécula de ADN, cuya secuenciación produjo el resultado que se recoge en el archivo "[Problema8IG2012-13.txt](#)" depositado

en la página web de la asignatura. Utilizando las herramientas bioinformáticas con las que te has familiarizado en las clases prácticas de Ingeniería Genética, emite respuestas razonadas a las siguientes preguntas: ¿Contiene dicha secuencia alguna pauta de lectura abierta que parezca codificar una proteína? (responde en 9A). ¿Cuál es la secuencia de dicha presunta proteína? (en 9B). ¿Se ha amplificado ADN genómico o ADNc? (en 9C). ¿Cuál es el género y la especie del organismo al que pertenece? (en 9D).

10.- El producto del gen *cubitus interruptus* de *Drosophila melanogaster* es un factor de transcripción cuya secuencia se recoge en el archivo "[Problema10IG2012-13.txt](#)". Utilizando las herramientas bioinformáticas con las que te has familiarizado en las clases prácticas de Ingeniería Genética, identifica los ortólogos más probables de la proteína cubitus interruptus en el hombre y el pollo, indicando sus códigos de acceso (*accession*) en 10A y 10B. ¿Qué página web, programa y base de datos has utilizado para identificar los ortólogos? (responde en 10C a 10E, respectivamente). Alinea las secuencias de las tres proteínas, empleando para ello ClustalW2 sin modificar ninguna de las opciones de este programa. Copia el alineamiento y pégalo en 10F. En base a la información que te proporciona el alineamiento múltiple que has obtenido con ClustalW2, indica en 10G cuántos aminoácidos son idénticos entre las tres proteínas, y diseña dos oligonucleótidos degenerados para la amplificación de genes ortólogos de *cubitus interruptus* a partir de muestras de ADN de especies cuyos genomas aún no se han secuenciado. Utiliza para este fin los segmentos SLATIMN y GFSIGHM de la proteína cubitus interruptus y los de sus ortólogos del pollo y humana que se alinean con ellos (indica la secuencia de los oligonucleótidos degenerados en 10H y 10I, respectivamente).

11.- El árbol genealógico de la Figura 7 representa un caso de herencia de la hipercolesterolemia familiar, una enfermedad autosómica dominante con penetrancia completa y expresividad variable, con indicación de los patrones de bandas de cada individuo para un RFLP visualizado con una sonda de ADNc complementaria de los exones de la región 3' del gen del receptor de las lipoproteínas de baja densidad. Cita en 11A los modos de herencia mendeliana simple incompatibles con el árbol.

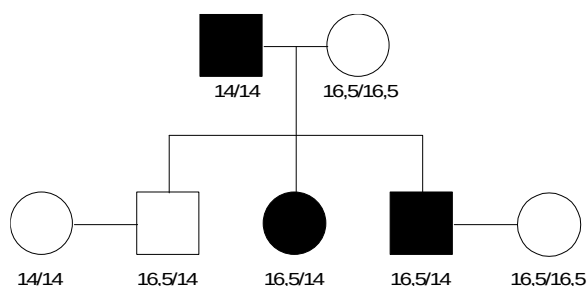


Figura 7

Emite en 11B una respuesta razonada a la pregunta de si la presencia de una banda de 16,5 kb en un análisis de RFLP realizado a cualquier nieto de I-1 y I-2 indicaría inequívocamente su propensión a padecer la enfermedad. Haz lo propio en 11C al respecto de una banda de 14 kb. Responde a la misma pregunta en 11D en relación a IV-2, cuya madre (III-4) es 16,5/16,5 y cuyo padre (III-3) es un hijo 16,5/14 de II-4 y II-5; y en 11E, en relación a IV-1, cuyo padre (III-1) es 14/14 y cuya madre (III-2) es una hija 14/14 de II-1 y II-2. En las familias de las que proceden II-1, II-5, III-1 y III-4 no se han dado casos de hipercolesterolemia.

12.- Se purificó ADN a partir de muestras de sangre de 200 personas, que se digirió individualmente con *EcoRI* y se sometió a electroforesis en geles de agarosa. Finalizadas las electroforesis, el ADN se transfirió, empleando el método de Southern, a membranas que fueron hibridadas con una sonda radiactiva. La autorradiografía de las membranas permitió visualizar solo 10 patrones diferentes, los que muestra la Figura 8. Explica los patrones de hibridación 1-10 que se observan en la Figura 8, dibujando para ello en 12A-12J un mapa de restricción de la región de los dos cromosomas homólogos a la que corresponden las bandas de la autorradiografía de cada individuo, con indicación de la posición de las dianas de *EcoRI* y destacando el segmento complementario de la sonda. Representa en 12K los mapas de restricción de los hijos de un

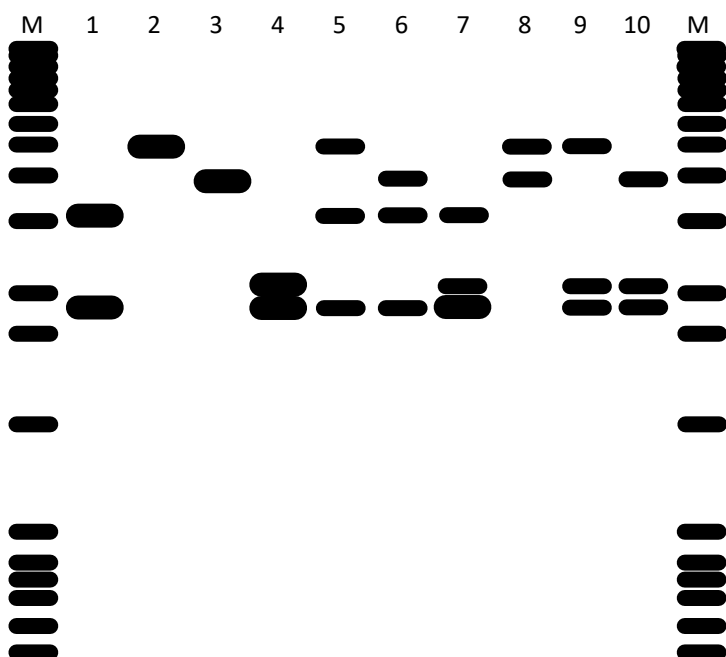


Figura 8

hombre y una mujer cuyos patrones son los 1 y 9 de la Figura 8, respectivamente. El marcador de peso molecular que se usó en la electroforesis es el representado en la Figura 1 (problema 2). No se requiere para resolver este problema una precisión superior a 0,1 kb.

13.- Con el fin de utilizarlos como cebadores en la amplificación por PCR de una molécula de ADN, se diseñaron y sintetizaron cuatro oligonucleótidos: UMHC, 5'-CTGCTTCAAAATCAACCAACG-3'; UMHD, 5'-ACAATTGCGTGTATATATTG-3'; UMHE, 5'-CCCGAATTCACAATTGCGTGTATATATTG-3' y UMHF, 5'-TTTGAATTCCTGCTTCAAAATCAACCAACG-3'. Utilizando las herramientas bioinformáticas con las que te has familiarizado en las clases prácticas de Ingeniería Genética, emite respuestas razonadas a las siguientes preguntas: ¿Cuál es el nombre del gen y el género y la especie del organismo al que corresponde la molécula que se podría amplificar con UMHC y UMHD (en 13A) o con UMHE y UMHF (en 13B)? ¿Podría amplificarse ADN genómico, ADNc o ambos en ese organismo con UMHC y UMHD (en 13C) o con UMHE y UMHF (en 13D)? Resume en 13E las semejanzas y diferencias más significativas entre las dos parejas de cebadores mencionadas. Propón una mejora en el diseño de UMHE y UMHF para incrementar su eficacia como pareja de cebadores (en 13F) y para optimizar la clonación de su producto de amplificación mediante PCR (en 13G).

14.- La secuencia del genoma del cerdo (*Sus scrofa domestica*), cuyo tamaño es 2,7 Gb, ha sido publicada recientemente. ¿Cuántos clones deberá contener una genoteca genómica del cerdo para que su representatividad sea del 95%? Responde en 14A si el vector con el que se ha construido la genoteca es un plásmido con insertos de 5 kb de tamaño medio; en 14B si deriva de λ , y los insertos son de 25 kb; en 14C, si es un cósmido, y sus insertos, de 42 kb; y en 14D, si es un YAC, y los insertos, de 500 kb.

Se han obtenido 400.000 EST de todos los tejidos, órganos y etapas del desarrollo del cerdo. Asumiendo que el tamaño medio de los ARNm del cerdo es 2 kb, y que sus secuencias suponen el 1,5% de la de su genoma ¿cuál es la representatividad de esta genoteca de EST? (responde en 14E). Casi todos los genes del cerdo están representados en esta genoteca por varias EST de diferentes longitudes; formula en 14F una hipótesis que explique esta observación. Explica en 14G si la secuencia de alguno de los extremos de las EST permite deducir qué tipo de cebadores se emplearon para su obtención.

15.- Indica las diferencias estructurales entre una molécula monocatenaria de ADN natural y un oligonucleótido que está siendo sintetizado por el método de la fosforamidita, antes de la adición al medio de reacción de fenóxido de trietilamonio, hidróxido amónico y ácido acético (cuatro diferencias; en 15A-15D) y una vez finalizada la síntesis (una diferencia; en 15E). Explica las consecuencias en una pirosecuenciación de la inactividad de la polimerasa (en 15F), la ATP sulfurilasa (en 15G), la luciferasa (en 15H), y la apirasa (en 15I).

16.- La secuencia de la Figura 9 fue obtenida en el laboratorio de José Luis Micol durante el verano de 2012 por un becario de iniciación a la investigación en Genética, empleando la versión semiautomatizada y fluorescente del método de Sanger, y corresponde a un segmento de una de las dos cadenas del gen *NOK* (*NO KIDDING*) humano. Indica en 16A la secuencia de dicha molécula. Utilizando herramientas bioinformáticas de dominio público, emite respuestas razonadas a las siguientes preguntas: ¿Contiene algún intrón la molécula cuya secuencia se refleja en el electroferograma? Si la respuesta es afirmativa, ¿cuáles son sus nucleótidos inicial y final (numerados desde el extremo 5' de la molécula)? Responde en 16B y 16C, respectivamente. Empleando el código genético de la Tabla 1, escribe en 16D la parte de la secuencia de la proteína NOK que puedes deducir del electroferograma. ¿Se ha utilizado en este experimento ddATP, dATP α S o dATP α ³⁵S? Responde razonadamente en 16E, 16F y 16G, respectivamente.

Tabla 1.- Código genético

		Segunda base			
		U	C	A	G
Primera base	U	UUU F	UCU S	UAU Y	UGU C
		UUC F	UCC S	UAC Y	UGC C
		UUA L	UCA S	UAA Stop	UGA Stop
		UUG L	UCG S	UAG Stop	UGG W
	C	CUU L	CCU P	CAU H	CGU R
		CUC L	CCC P	CAC H	CGC R
		CUA L	CCA P	CAA Q	CGA R
		CUG L	CCG P	CAG Q	CGG R
	A	AUU I	ACU T	AAU N	AGU S
		AUC I	ACC T	AAC N	AGC S
		AUA I	ACA T	AAA K	AGA R
		AUG M	ACG T	AAG K	AGG R
	G	GUU V	GCU A	GAU D	GGU G
		GUC V	GCC A	GAC D	GGC G
		GUA V	GCA A	GAA E	GGA G
		GUG V	GCG A	GAG E	GGG G

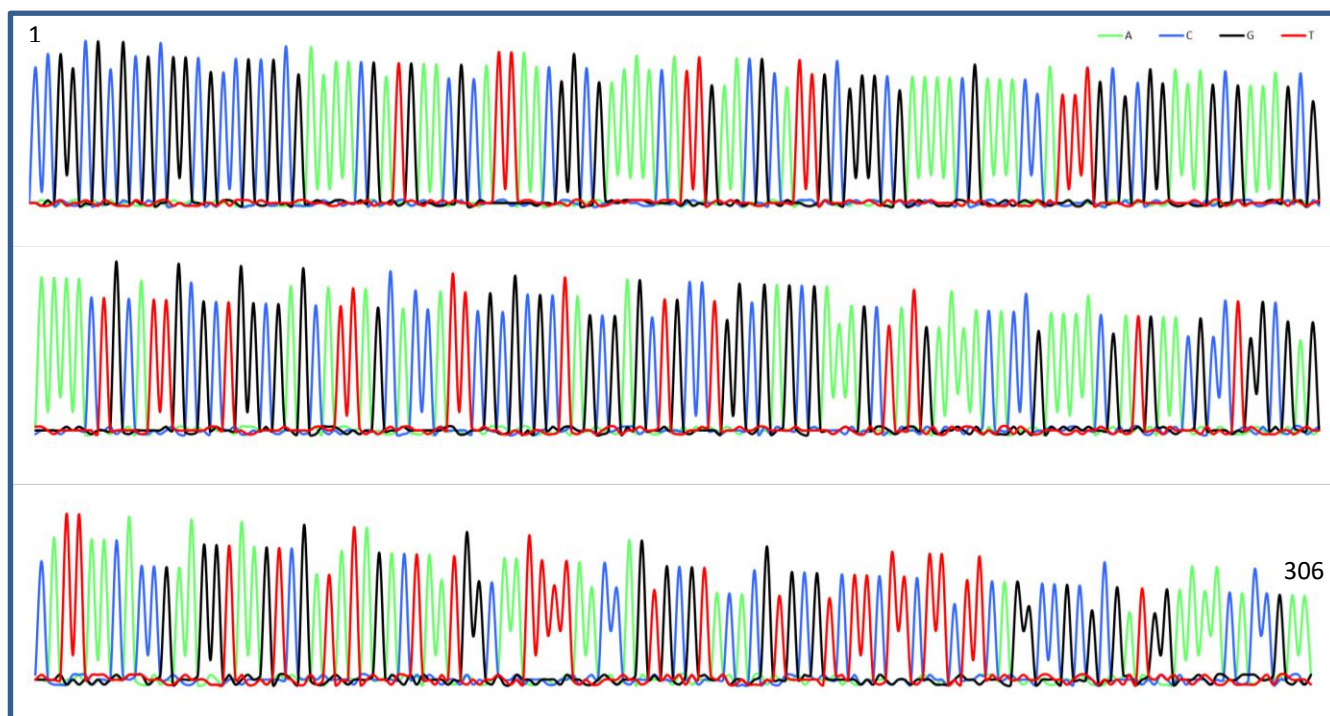


Figura 9.- Electroferograma del problema 16.

17.- En la Figura 10 se representa parte de la secuencia del gen *ICU2* (*INCURVATA2*) de *Arabidopsis thaliana*, destacándose los intrones en minúsculas y los exones en mayúsculas. Indica en 17A las temperaturas de fusión y en 17B las secuencias, y subraya en 17C las posiciones, de una pareja de oligonucleótidos de 20 nt, que debes diseñar con el fin de amplificar por PCR el segmento de la mayor longitud posible del ADN genómico de la Figura 10. Haz otro tanto en 17D-17F para amplificar mediante RT-PCR el segmento de la mayor longitud posible del ADNc (sin amplificar ADN genómico) al que corresponde la secuencia representada en la Figura 10.

```

2821 GGGAAAAGTT GGAAGTGAAG ATGGGGCTTT GCTTGGTCTT AGTTCTGAAG GGAAAACGGA
2881 ATTTGATTTG GATGCTGACG GATCACTTCG TTTCTTCATT CTTGACGCTT ATGAGGAGGC
2941 TTTTGGTGCG AGCATGGGCA CAATATATCT GTTTGGGAAG gtgaatctct agatttttca
3001 ttcattttta aagttgttct tttggcctta atctagagaa tgaattcggg ctctcttttt
3061 ttaacaattc agGTTAAAAT GGGAGATACT TACAAGAGTT GCTGTGTGGT AGTTAAGAAT
3121 ATCCAGAGGT GTGTTTATGC TATTCCAAAT GATTCCATAT TTCCTTCCCA TGAAGTAATC
3181 ATGCTCGAGC AAGAGGTGAA AGACTCTCGA CTTTCTCCTG AATCCTTCCG TGGGAAATTG
3241 CATgtgagtt tgactacctt tgttacatgc taagaggaag caatctatth tcctctgttg
3301 ttcattgttt ttggctgtgt cttctcagGA AATGGCATCA AAAGTGAAA ACGAAATTGC
  
```

Figura 10.- Secuencia parcial del gen *ICU2* de *Arabidopsis thaliana*.

18.- Utiliza la información que puedas encontrar en Internet, particularmente en YouTube, para responder a las siguientes preguntas: ¿Cuáles son las ventajas del sistema Miseq de secuenciación masiva de ADN en opinión de su fabricante, Illumina? (responde en 18A). ¿Cuáles son las ventajas del sistema Ion Proton de secuenciación masiva de ADN en opinión de su fabricante, Life Technologies? (responde en 18B).

19.- Explica sucintamente en 19A-19I qué has aprendido durante la resolución y discusión de los problemas 1-9 de esta asignatura, respectivamente. Este enunciado se hizo público el 10 de enero de 2013, a las 18:00.

20.- Explica sucintamente en 20A-20I qué has aprendido durante la resolución y discusión de los problemas 10-18 de esta asignatura, respectivamente. Este enunciado se hizo público el 10 de enero de 2013, a las 18:00.

Área de Genética
Universidad Miguel Hernández

Departamento de Biología Aplicada
Grado en Biotecnología
Curso 2012-13

Hoja de respuestas a la serie 1 de problemas

Remitir a jlmicol@umh.es indicando *IG1* en el campo del asunto del mensaje. Debe remitirse también otro mensaje que contenga al menos una diapositiva por problema, indicando *IG1D* en el asunto. El nombre de los archivos será *Apellido1 Apellido2 Nombre* (del remitente). Solo se admitirán archivos *pdf* para las hojas de respuestas rellenas y *ppt* o *pptx* para las diapositivas.

Apellidos:		Nombre:	
1A	1B		
1C			
1D		2A	
2B			
2C			

Área de Genética
Universidad Miguel Hernández

Departamento de Biología Aplicada
Grado en Biotecnología
Curso 2012-13

Hoja de respuestas a la serie 2 de problemas

Remitir a jlmicol@umh.es indicando IG2 en el campo del asunto del mensaje. Debe remitirse también otro mensaje que contenga al menos una diapositiva por problema, indicando IG2D en el asunto. El nombre de los archivos será *Apellidos Nombre* (del remitente). Solo se admitirán archivos *pdf* para las hojas de respuestas rellenas y *ppt* o *pptx* para las diapositivas.

Apellidos:			Nombre:		
3A		3B		3C	
3D		3E		3F	
3G			3H		
4A			4B		
4C	4D	4E			
4F					

Área de Genética
Universidad Miguel Hernández

Departamento de Biología Aplicada
Grado en Biotecnología
Curso 2012-13

Hoja de respuestas a la serie 3 de problemas

Remitir a jlmicol@umh.es indicando *IG3* en el campo del asunto del mensaje. Debe remitirse también otro mensaje que contenga al menos una diapositiva por problema, indicando *IG3D* en el asunto. El nombre de los archivos será *Apellido1 Apellido2 Nombre* (del remitente). Solo se admitirán archivos *pdf* para las hojas de respuestas rellenas y *ppt* o *pptx* para las diapositivas.

Apellidos:		Nombre:	
5A	5B	5C	
5D	5E	5F	
5G			5H
5I		5J	
6A	6B	6C	
6D	6E	6F	6G

Área de Genética
Universidad Miguel Hernández

Departamento de Biología Aplicada
Grado en Biotecnología
Curso 2012-13

Hoja de respuestas a la serie 4 de problemas

Remitir a jlmicol@umh.es indicando *IG4* en el campo del asunto del mensaje. Debe remitirse también otro mensaje que contenga al menos una diapositiva por problema, indicando *IG4D* en el asunto. El nombre de los archivos será *Apellido1 Apellido2 Nombre* (del remitente). Solo se admitirán archivos *pdf* para las hojas de respuestas rellenas y *ppt* o *pptx* para las diapositivas.

Apellidos:		Nombre:	
7A	7B	7C	7D
7E	7F	7G	7H
7I	7J	7K	7L
7M	7N	8A	8B
8C	8D	8E	8F
8G	8H	8I	8J
8K	8L	8M	8N
8Ñ	8O	8P	8Q
8R	8S	8T	8U

Área de Genética
Universidad Miguel Hernández

Departamento de Biología Aplicada
Grado en Biotecnología
Curso 2012-13

Hoja de respuestas a la serie 5 de problemas

Remitir a jlmicol@umh.es indicando *IG5* en el campo del asunto del mensaje. Debe remitirse también otro mensaje que contenga al menos una diapositiva por problema, indicando *IG5D* en el asunto. El nombre de los archivos será *Apellido1 Apellido2 Nombre* (del remitente). Solo se admitirán archivos *pdf* para las hojas de respuestas rellenas y *ppt* o *pptx* para las diapositivas.

Apellidos:		Nombre:
9A	9C	10F
9B		
9D		
10A	10B	
10C		
10D	10E	
10G		
10H		
10I		

Área de Genética
Universidad Miguel Hernández

Departamento de Biología Aplicada
Grado en Biotecnología
Curso 2012-13

Hoja de respuestas a la serie 6 de problemas

Remitir a jlmicol@umh.es indicando *IG6* en el campo del asunto del mensaje. Debe remitirse también otro mensaje que contenga al menos una diapositiva por problema, indicando *IG6D* en el asunto. El nombre de los archivos será *Apellido1 Apellido2 Nombre* (del remitente). Solo se admitirán archivos *pdf* para las hojas de respuestas rellenas y *ppt* o *pptx* para las diapositivas.

Apellidos:		Nombre:
11A		
11B		
11C		
11D		
11E		
12A	12B	12C
12D	12E	12F
12G	12H	12I
12J	12K	

Área de Genética
Universidad Miguel Hernández

Departamento de Biología Aplicada
Grado en Biotecnología
Curso 2012-13

Hoja de respuestas a la serie 7 de problemas

Remitir a jlmicol@umh.es indicando *IG7* en el campo del asunto del mensaje. Debe remitirse también otro mensaje que contenga al menos una diapositiva por problema, indicando *IG7D* en el asunto. El nombre de los archivos será *Apellido1 Apellido2 Nombre* (del remitente). Solo se admitirán archivos *pdf* para las hojas de respuestas rellenas y *ppt* o *pptx* para las diapositivas.

Apellidos:		Nombre:		
13A				
13B				
13C				
13D				
13E				
13F				
13G				
14A	14B	14C	14D	14E
14F				
14G				

Área de Genética
Aplicada

Universidad Miguel Hernández

Departamento

de

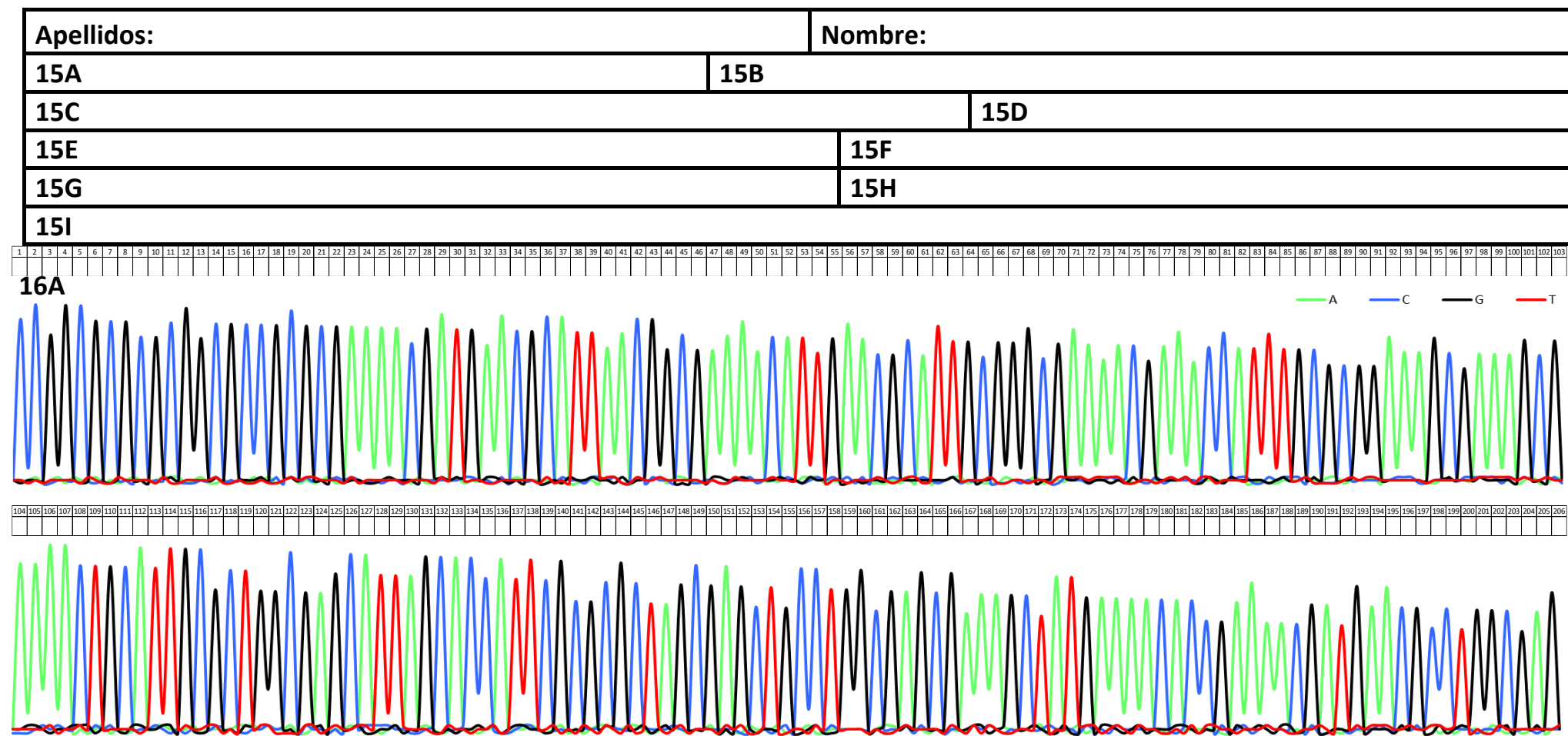
Biología

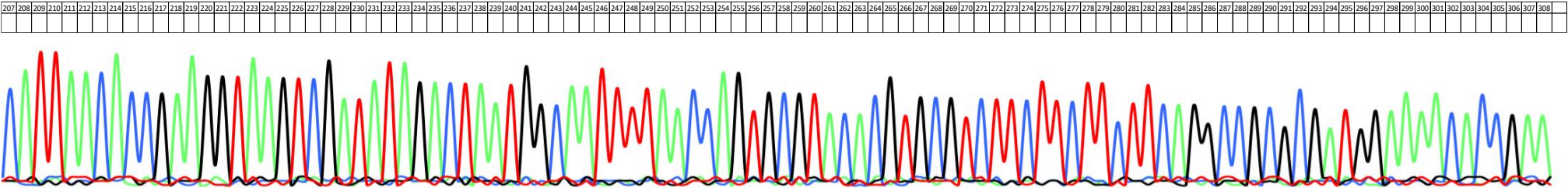
Grado en Biotecnología

Curso 2012-13

Hoja de respuestas a la serie 8 de problemas

Remitir a jlmicol@umh.es indicando *IG8* en el campo del asunto del mensaje. Debe remitirse también otro mensaje que contenga al menos una diapositiva por problema, indicando *IG8D* en el asunto. El nombre de los archivos será *Apellido1 Apellido2 Nombre* (del remitente). Solo se admitirán archivos *pdf* para las hojas de respuestas rellenas y *ppt* o *pptx* para las diapositivas.





16B	16C
16D	
16E	
16F	
16G	

Área de Genética
Universidad Miguel Hernández

Departamento de Biología Aplicada
Grado en Biotecnología
Curso 2012-13

Hoja de respuestas a la serie 9 de problemas

Remitir a jlmicol@umh.es indicando *IG9* en el campo del asunto del mensaje. Debe remitirse también otro mensaje que contenga al menos una diapositiva por problema, indicando *IG9D* en el asunto. El nombre de los archivos será *Apellido1 Apellido2 Nombre* (del remitente). Solo se admitirán archivos *pdf* para las hojas de respuestas rellenas y *ppt* o *pptx* para las diapositivas.

Apellidos:		Nombre:	
17A	17B		
17C			
2821	GGGAAAAGTT	GGAAGTGAAG	ATGGGGCTTT
2881	ATTTGATTTG	GATGCTGACG	GATCACTTCG
2941	TTTTGGTGCG	AGCATGGGCA	CAATATATCT
3001	ttcatttttta	aagttgtttct	tttggcctta
3061	ttaacaattc	agGTTAAAAAT	GGGAGATACT
3121	ATCCAGAGGT	GTGTTTATGC	TATTCCAAAT
3181	ATGCTCGAGC	AAGAGGTGAA	AGACTCTCGA
3241	CATgtgagtt	tgactacctt	tgttacatgc
3301	ttcattgtttt	ttggctgtgt	cttctcagGA
GCTTGGTTCT AGTTCTGAAG GGAAAACGGA TTTCTTCATT CTTGACGCTT ATGAGGAGGC GTTGGGAAG gtgaatctct agatttttca atctagagaa tgaattcgggt ctctcttttt TACAAGAGTT GCTGTGTGGT AGTTAAGAAT GATTCCATAT TTCTTCCCA TGAAGTAATC CTTTCTCCTG AATCCTTCCG TGGGAAATTG taagaggaag caatctattt tcctctgttg AATGGCATCA AAAGTGAAGA ACGAAATTGC			
17D	17E		
17F			
2821	GGGAAAAGTT	GGAAGTGAAG	ATGGGGCTTT
2881	ATTTGATTTG	GATGCTGACG	GATCACTTCG
2941	TTTTGGTGCG	AGCATGGGCA	CAATATATCT
3001	ttcatttttta	aagttgtttct	tttggcctta
3061	ttaacaattc	agGTTAAAAAT	GGGAGATACT
3121	ATCCAGAGGT	GTGTTTATGC	TATTCCAAAT
3181	ATGCTCGAGC	AAGAGGTGAA	AGACTCTCGA
3241	CATgtgagtt	tgactacctt	tgttacatgc
3301	ttcattgtttt	ttggctgtgt	cttctcagGA
GCTTGGTTCT AGTTCTGAAG GGAAAACGGA TTTCTTCATT CTTGACGCTT ATGAGGAGGC GTTGGGAAG gtgaatctct agatttttca atctagagaa tgaattcgggt ctctcttttt TACAAGAGTT GCTGTGTGGT AGTTAAGAAT GATTCCATAT TTCTTCCCA TGAAGTAATC CTTTCTCCTG AATCCTTCCG TGGGAAATTG taagaggaag caatctattt tcctctgttg AATGGCATCA AAAGTGAAGA ACGAAATTGC			
18A			
18B			

Área de Genética
Universidad Miguel Hernández

Departamento de Biología Aplicada
Grado en Biotecnología
Curso 2012-13

Hoja de respuestas a la serie 10 de problemas

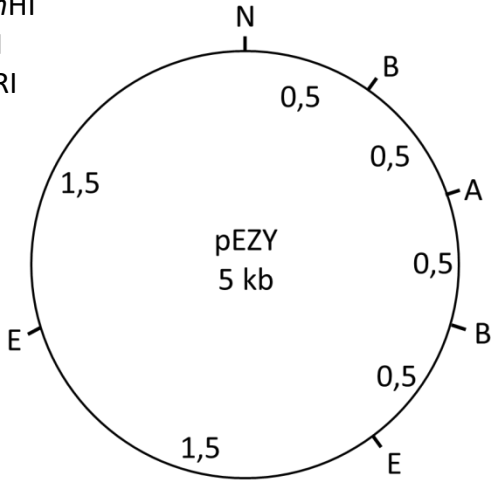
Remitir a jlmicol@umh.es indicando *IG10* en el campo del asunto del mensaje. Debe remitirse también otro mensaje que contenga al menos una diapositiva por problema, indicando *IG10D* en el asunto. El nombre de los archivos será *Apellido1 Apellido2 Nombre* (del remitente). Solo se admitirán archivos *pdf* para las hojas de respuestas rellenas y *ppt* o *pptx* para las diapositivas.

Apellidos:	Nombre:
19A	
19B	
19C	
19D	
19E	
19F	
19G	
19H	
19I	
20A	
20B	
20C	
20D	
20E	
20F	
20G	
20H	
20I	

Área de Genética
Universidad Miguel Hernández

Departamento de Biología Aplicada
Grado en Biotecnología
Curso 2012-13

Hoja de respuestas a la serie 1 de problemas

Apellidos:		Nombre:	
1A 3.750 veces	1B M1 5' -TAGCTCC-3' M2 3' -ATCGAGG-5' M3 5' -GCTCCTA-3' M4 3' -CGAGGAT-5' M1 5' -TAGCTCC-3' M4 3' -CGAGGAT-5' M3 5' -GCTCCTA-3' M2 3' -ATCGAGG-5'		
1C A/T; G/C; (A+G)/(C+T); (G+T)/(A+C).			
1D 33%		2A N: <i>NarI</i> B: <i>BamHI</i> A: <i>AccI</i> E: <i>EcoRI</i> 	
2B Las bandas de la calle P corresponden a moléculas del plásmido pEZY con diferente topología: ADN circular superenrollado (la banda de abajo, con mayor migración electroforética) y mellado (la de arriba).			
2C Las bandas de la calle Lig representan todas las ligaciones posibles entre dos o más fragmentos de restricción obtenidos tras una digestión por <i>NarI</i> o <i>AccI</i> , que generan extremos compatibles.			

Área de Genética
Universidad Miguel Hernández

Departamento de Biología Aplicada
Grado en Biotecnología
Curso 2012-13

Hoja de respuestas a la serie 2 de problemas

Apellidos:		Nombre:	
3A Dos tratamientos alternativos: (a) con la nucleasa S1, o (b) con Bal31 muy concentrada.	3B Ligasa de T4.		3C Endonucleasa de restricción <i>Hpa</i> II.
3D (1) ADN pol I de <i>Escherichia coli</i> en presencia de dATP. (2) Ligasa de T4 o <i>Escherichia coli</i> .	3E DNasa I en presencia de Mg^{2+} .		3F Ligasa de T4 o de <i>Escherichia coli</i> .
3G Eliminación de la cadena de ARN (la de arriba en la Figura 3F) con RNasa H.		3H Eliminación de la cadena de ADN (la de abajo en la Figura 3F) con DNasa I en presencia de Mn^{2+} .	
4A 5' -GTCGCCGGACTAGATCAGTG-3'		4B 5' -GTCGACCCGAGAGGTCAGTG-3'	
4C 57,93°C	4D 55,88°C	4E 94°C, 30 s; 35 × (94°C, 30 s; 51°C, 10 s; 72°C, 2 min); 72°C, 10 min; 4°C, ∞	
4F Se forma un dímero de cebadores como consecuencia de la complementariedad entre los 5 nucleótidos de sus extremos 5'. Los cebadores hibridan entre sí y la polimerasa les incorpora los nucleótidos que se destacan a continuación en rojo. 5' -GTCGCCGGACTAGATCAGTGACCTCTCGGGTCGAC-3' 3' -CAGCGGCCTGATCTAGTCACTGGAGAGCCCAGCTG-5'			

Área de Genética
Universidad Miguel Hernández

Departamento de Biología Aplicada
Grado en Biotecnología
Curso 2012-13

Hoja de respuestas a la serie 3 de problemas

Apellidos:		Nombre:	
5A El gen <i>Amp^R</i> codifica una β -lactamasa que degrada las penicilinas, causando resistencia a este antibiótico en <i>Escherichia coli</i> .	5B Los vectores portadores del gen <i>Amp^R</i> se utilizan con hospedadores <i>Amp^S</i> . La selección se realiza en medio con ampicilina.	5C El gen <i>Neo</i> codifica la neomicina fosfotransferasa, que causa resistencia a neomicina, a la que inactiva.	
5D Los vectores portadores del gen <i>Neo</i> se utilizan con hospedadores <i>Neo^S</i> (usualmente eucarióticos). La selección se realiza en medio con neomicina.	5E <i>lacZ'</i> es un alelo mutante (un segmento) del gen <i>lacZ</i> de <i>Escherichia coli</i> , que codifica el péptido α .	5F Los vectores portadores de <i>lacZ'</i> se utilizan con hospedadores <i>lacZΔM15</i> , que producen el péptido ω , en presencia de IPTG y X-Gal, para llevar a cabo una selección de colonias azules/blancas.	
5G Los extremos con una T sobresaliente son 3', ya que se han diseñado para su unión por complementariedad a las A protuberantes 3' de los productos de amplificación por PCR, que genera la actividad transferasa terminal de la polimerasa <i>Taq</i> .			5H Es un vector plasmídico de clonación y para la expresión de genes en hospedadores eucarióticos.
5I Probablemente sí. Se indica en el mapa un origen de replicación (<i>ori</i>), sin detallar su procedencia, y otro, <i>f1 ori</i> , que es el del fago filamentoso <i>f1</i> (también llamado <i>M13</i>) de <i>Escherichia coli</i> .		5J Aparentemente, en <i>Escherichia coli</i> y en células de mamífero en cultivo, ya que contiene secuencias de SV40 y pBR322.	
6A <i>ColE1</i> : Origen de replicación operativo en <i>Escherichia coli</i> .	6B T-DNA right border (RB): Borde derecho del ADN-T del plásmido pTi de <i>Agrobacterium tumefaciens</i> (para la inserción de ADN en genomas de plantas).	6C 35S promoter: Promotor del virus del mosaico de la coliflor (muy eficaz para la transcripción en plantas).	
6D Multiple cloning site: Sitio de clonación múltiple, con numerosas dianas de restricción únicas.	6E HygroR: Gen de resistencia a higromicina (marcador seleccionable en <i>Escherichia coli</i> y en plantas).	6F T-DNA left border (LB): Borde izquierdo del ADN-T del plásmido pTi de <i>Agrobacterium tumefaciens</i>	6G Kan ^R : Gen de resistencia a kanamicina (marcador seleccionable en bacterias y plantas).

Área de Genética
Universidad Miguel Hernández

Departamento de Biología Aplicada
Grado en Biotecnología
Curso 2012-13

Hoja de respuestas a la serie 4 de problemas

Apellidos:		Nombre:	
7A Desnaturalización por calentamiento.	7B Ninguno; el molde no es complementario del cebador.	7C 5'-ATGGTACGTACGAA T-3'	7D 5'-ATGAAAAAAAA-3'
7E No, porque no se sintetiza ADN (el cebador no hibrida con el molde).	7F Sí, porque se sintetiza ADN que incorpora los α - ^{32}P del $[\alpha$ - ^{32}P]-dATP.	7G Sí, porque se sintetiza ADN que incorpora los α - ^{32}P del $[\alpha$ - ^{32}P]-dATP.	7H No, porque no se sintetiza ADN (el cebador no hibrida con el molde).
7I No, porque se sintetiza ADN pero no incorpora los γ - ^{32}P del $[\gamma$ - ^{32}P]-dATP.	7J No, porque se sintetiza ADN pero no incorpora los γ - ^{32}P del $[\gamma$ - ^{32}P]-dATP.	7K No, porque no se sintetiza ADN (el cebador no hibrida con el molde).	7L No, porque el dAMP no es sustrato de la ADNpol I.
7M No, porque el dAMP no es sustrato de la ADNpol I.	7N 5'-ATGAAAAAAAA-3', que contiene 8 átomos de ^{32}P , 4 más que 5'-ATGGTACGTACGAAT-3'.	8A $3973 + 3028 = 7001$ pb	8B No se pierde parte del vector.
8C 0 pb.	8D <i>KpnI</i> (<i>Acc65I</i>) se puede usar con <i>SpeI</i> . El tamaño del inserto será $2914-795=2119$ pb.	8E <i>EcoO109I</i> (<i>Drall</i>) no puede usarse porque no tiene ninguna diana en el inserto.	8F <i>ApaI</i> no puede usarse porque no tiene ninguna diana en el inserto.
8G <i>XhoI</i> no puede usarse porque no tiene ninguna diana en el inserto.	8H <i>HincII</i> (<i>Accl</i> , <i>Sall</i>) no puede usarse porque no tiene ninguna diana en el inserto.	8I <i>Bsp106I</i> (<i>Clal</i>) no puede usarse porque tiene dos dianas en el inserto (896 y 1.091).	8J <i>HindIII</i> no puede usarse porque no tiene ninguna diana en el inserto.
8K <i>EcoRV</i> se puede usar con <i>SpeI</i> . El tamaño del inserto será $2.914-804=2.110$ pb.	8L <i>EcoRI</i> no puede usarse porque no tiene ninguna diana en el inserto.	8M <i>PstI</i> se puede usar con <i>SpeI</i> . El tamaño del inserto será $2.914-1.827=1.087$ pb.	8N <i>SmaI</i> se puede usar con <i>SpeI</i> . El tamaño del inserto será $2.914-382=2.532$ pb.
8Ñ <i>BamHI</i> no puede usarse porque no tiene ninguna diana en el inserto.	8O <i>SpeI</i> se puede usar con <i>SmaI</i> . El tamaño del inserto será $2.914-382=2.532$ pb.	8P <i>XbaI</i> no puede usarse porque no tiene ninguna diana en el inserto.	8Q <i>NotI</i> no puede usarse porque no tiene ninguna diana en el inserto.
8R <i>EagI</i> se puede usar con <i>SmaI</i> . El tamaño del inserto será $2.448-382=2.066$ pb.	8S <i>BstXI</i> no puede usarse porque no tiene ninguna diana en el inserto.	8T <i>SacII</i> no puede usarse porque no tiene ninguna diana en el inserto.	8U <i>SacI</i> no puede usarse porque no tiene ninguna diana en el inserto.

Apellidos:		Nombre:
9A	9C	10F
Sí, una que codifica 470 aminoácidos.	Parece ADNc, ya que carece de intrones.	
9B		
MHIFPSVITMEYSRKTYLDLNIAMAKYIILISL FFGPGLSWDVFYSGDEDOLSLARRAANYNP SPHMSTWERNEIOOEILNILGLOHRPRPPSLR GGONOFCAOFTWSYYRTLNIDEOSGHPSETE POPGGLASNAIYNPDSSGIGSVMSGTVFNVT RNEVOAVSOADTIMSLPVHYKDAAIEDTEHRY RFDIGRIPOGETVTSaelRVFRDAGROGRSLY RIDVLLLRERGDGSRSPVYLSDIVGAGDHG WLVFDMTSAATSWRSYPGANVGLLRVESLOG LNIDPTDAGVVGVGNNEGREFPMVFFORNEE VIATNSHLRRNRRAATROKKGGKRPRKPDTDN DIASRDSASSLNSDWOCKRKNLFVNFEFLDWO EWIIAPLGYVAFYCOCGECAFPLNGHANATNHA IVOTLVHHMSPSHVPPOCCAPTCLSPITVLyy DDSRNVVLKKYKNMVVRACGL		
9D	<i>Strongylocentrotus purpuratus</i>	
10A	10B	
AAG22821.1	AAI11411.1	
10C		
http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi		
10D	10E	
Protein blast (blastp)	Non-redundant protein sequences (nr)	
10G 195 aminoácidos		
10H SL(V,A)(T,A)(IY)(M,L,I)N		
5'-(A,T)(C,G)N(C,T)TNG(C,T)N(A,G)CN(A,T)(A,T) (T,C,A)(A,C,T)TNAA(T,C)-3'		
10I G(S,F)(A,S)(F,I)GH(T,S,M)		
5'-N(G,A)(A,T)(G,A)TGNCCT(G,A)A(A,T)NG(A,C) N(G,A)ANCC-3'		

Hoja de respuestas a la serie 6 de problemas

Apellidos:		Nombre:	
11A Herencia dominante ligada al sexo.			
11B Uno de los dos RFLP de 14 kb de I-1 está ligado al alelo del gen del receptor de las LDL que causa la hipercolesterolemia familiar. Ninguno de los RFLP de 16,5 kb cosegrega con la enfermedad. La presencia de una banda de 16,5 kb en un análisis de RFLP realizado a cualquier nieto de I-1 y I-2 no indicaría su propensión a padecer la enfermedad.			
11C Solo uno de los dos RFLP de 14 kb de I-1 está ligado al alelo del gen del receptor de las LDL que causa la hipercolesterolemia familiar. La presencia de una banda de 16,5 kb en un análisis de RFLP realizado a cualquier nieto de I-1 y I-2 no indicaría su propensión a padecer la enfermedad.			
11D El individuo II-4 manifiesta un RFLP de 14 kb que cosegrega con la enfermedad, que ha heredado de I-1 y que ha transmitido a III-3. La presencia de una banda de 14 kb en un análisis de RFLP realizado a IV-2 sí indicaría inequívocamente su propensión a padecer la enfermedad, ya que es hijo de III-3. Existe la posibilidad, no obstante, de que IV-2 sea un recombinante.			
11E Ninguno de los RFLP de 14 kb de III-1 o III-2 cosegrega con la enfermedad. La presencia de una banda de 14 kb en un análisis de RFLP realizado a IV-1 no indicaría inequívocamente su propensión a padecer la enfermedad. De hecho, nada sugiere que pueda padecerla.			
12A 	12B 	12C 	
12D 	12E 	12F 	
12G 	12H 	12I 	
12J 	12K 		

Área de Genética
Universidad Miguel Hernández

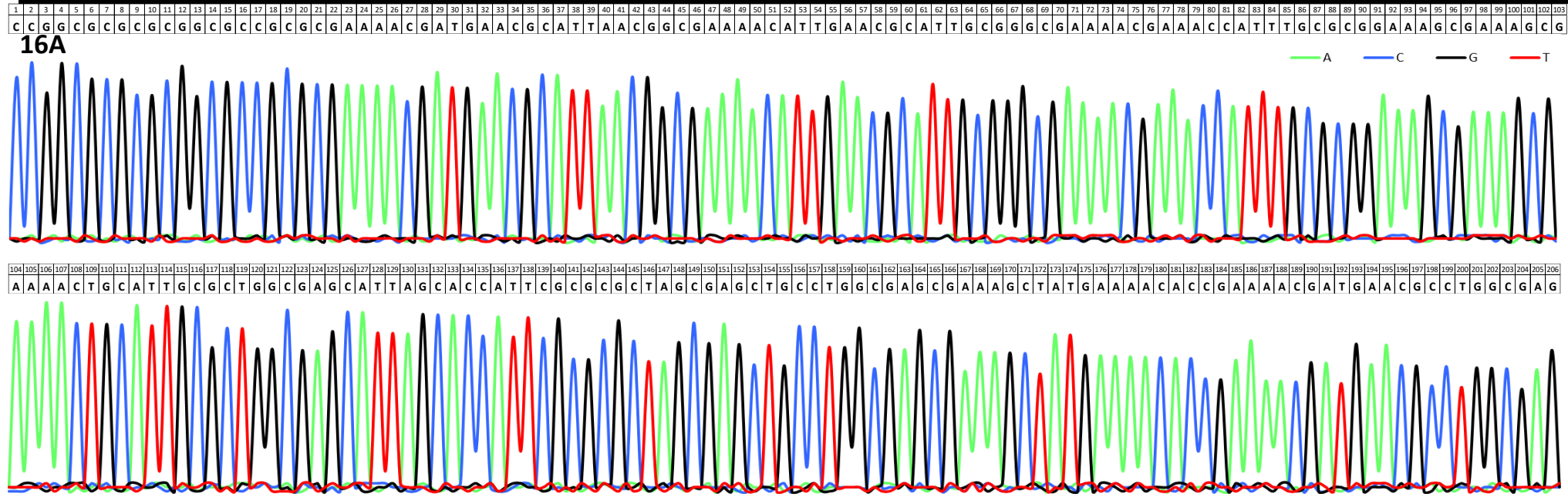
Departamento de Biología Aplicada
Grado en Biotecnología
Curso 2012-13

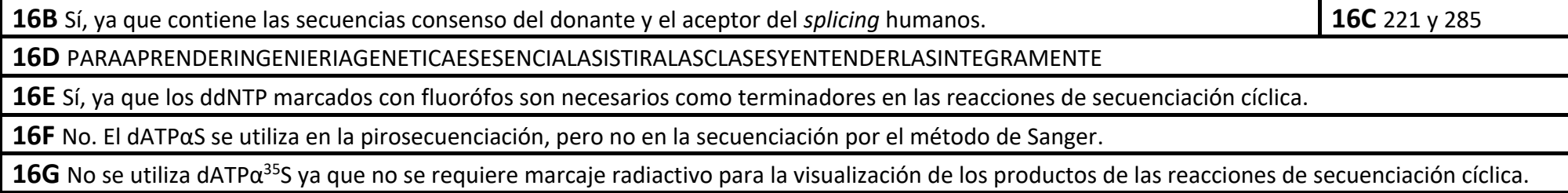
Hoja de respuestas a la serie 7 de problemas

Apellidos:		Nombre:														
13A El gen <i>lilliputian (lilli)</i> , de <i>Drosophila melanogaster</i> .																
13B El gen <i>lilliputian (lilli)</i> , de <i>Drosophila melanogaster</i> .																
13C Puede amplificarse tanto ADN genómico como ADNc.																
13D Puede amplificarse tanto ADN genómico como ADNc.																
13E Las dos parejas de cebadores hibridan con las mismas secuencias del gen <i>lilli</i> . UMHe y UMHf cuentan con una diana de restricción para <i>EcoRI</i> en sus extremos 5', que se ha incorporado con el fin de facilitar la clonación de sus productos de PCR.																
13F (a) Se debería evitar la zona de complementariedad entre UMHe y UMHf (7 pb), sustituyendo en uno de ellos la diana <i>EcoRI</i> por la de otra restrictasa. (b) UMHf presenta complementariedad interna, que debería evitarse eligiendo otra secuencia del molde para diseñar este cebador.																
<table border="0"> <tr> <td>(a)</td> <td>5' -CCCGAATTCAACAATTGCGTGTATATATTTG-3'</td> <td>(b)</td> <td>TGCTTCAAAATCAACCAACG-3'</td> </tr> <tr> <td></td> <td>CTTAAGT</td> <td></td> <td>C AAGTTT-5'</td> </tr> <tr> <td>3' -GCAACCAACTAAACTTCGTC</td> <td>TT-5'</td> <td></td> <td>CTT</td> </tr> </table>					(a)	5' -CCCGAATTCAACAATTGCGTGTATATATTTG-3'	(b)	TGCTTCAAAATCAACCAACG-3'		CTTAAGT		C AAGTTT-5'	3' -GCAACCAACTAAACTTCGTC	TT-5'		CTT
(a)	5' -CCCGAATTCAACAATTGCGTGTATATATTTG-3'	(b)	TGCTTCAAAATCAACCAACG-3'													
	CTTAAGT		C AAGTTT-5'													
3' -GCAACCAACTAAACTTCGTC	TT-5'		CTT													
13G Dado que tanto UMHe como UMHf contienen una diana <i>EcoRI</i> en su extremo 5', la clonación de sus productos de PCR rinde una mezcla de construcciones en las que el inserto se ha unido al vector en los dos sentidos posibles. Para evitarlo, convendría sustituir la diana <i>EcoRI</i> por otra distinta en uno de los dos oligonucleótidos.																
14A 1.617.694	14B 323.538	14C 192.581	14D 16.175	14E 100%												
14F La retrotranscriptasa es poco eficaz y suele rendir moléculas de ADNc que representan parcialmente al ARNm que usa como molde, ya que en algunos casos no completa la lectura de este último. Además, mediante <i>splicing</i> diferencial pueden obtenerse diferentes moléculas de ARNm a partir de un mismo gen. Por último, la longitud de las lecturas de la secuencia de los extremos de cada molécula de ADNc clonada depende del método de secuenciación empleado.																
14G Si se ha empleado un oligo(dT) _n , la mayoría de las moléculas de ADNc bicatenario presentarán una cola de pares A-T en uno de sus extremos. La ausencia de estas colas indica que se emplearon cebadores aleatorios para la retrotranscripción.																

Hoja de respuestas a la serie 8 de problemas

Apellidos:		Nombre:	
15A Los sintéticos están anclados a una matriz por su extremo 3',	15B y sus nucleótidos están unidos entre sí por puentes fosfito triéster metilados,		
15C y el grupo N-aco de sus bases nitrogenadas está protegido con benzoilo o isobutirilo,		15D y su extremo 5' esta dimetoxitritilado.	
15E Los naturales tienen un grupo fosfato en 5', y los sintéticos, un hidroxilo.		15F No se formarían puentes fosfodiéster, y no habría luminiscencia.	
15G No se formaría ATP, por lo que no habría luminiscencia.		15H No se degradaría la luciferina, por lo que no habría luminiscencia.	
15I No se degradarían los nucleótidos no incorporados, por lo que no sería posible obtener lecturas correctas.			





Área de Genética
Universidad Miguel Hernández

Departamento de Biología Aplicada
Grado en Biotecnología
Curso 2012-13

Hoja de respuestas a la serie 9 de problemas

Apellidos:		Nombre:	
17A 43,58 y 45,63°C	17B 5'-GAAAAGTTGGAAGTGAAGAAT-3' y 5'-GCAATTTTCGTTTTTCAGTTT-3'		
17C			
2821 GG GAAAAGTT GGAAGTGAAGA ATGGGGCTTT GCTTGGTTCT AGTTCTGAAG GGAAAACGGA 2881 ATTTGATTTG GATGCTGACG GATCACTTCG TTTCTTCATT CTTGACGCTT ATGAGGAGGC 2941 TTTTGGTGCG AGCATGGGCA CAATATATCT GTTTGGGAAG gtgaatctct agatttttca 3001 ttcatttttta aagttgttct tttggcctta atctagagaa tgaattcgggt ctctcttttt 3061 ttaacaattc agGTTAAAAAT GGGAGATACT TACAAGAGTT GCTGTGTGGT AGTTAAGAAT 3121 ATCCAGAGGT GTGTTTATGC TATTCCAAAT GATTCCATAT TTCCTTCCCA TGAAGTAATC 3181 ATGCTCGAGC AAGAGGTGAA AGACTCTCGA CTTTCTCCTG AATCCTTCCG TGGGAAATTG 3241 CATgtgagtt tgactacctt tgttacatgc taagaggaag caatctattt tcctctgttg 3301 ttcattgttt ttggctgtgt cttctcagGA AATGGCATCA AAAGTGAAGA ACGAAATTGC			
17D 43,58 y 43,58°C	17E 5'-GAAAAGTTGGAAGTGAAGAAT-3' y 5'-ATGCCATTTTCATGCAATTTTC-3'		
17F			
2821 GG GAAAAGTT GGAAGTGAAGA ATGGGGCTTT GCTTGGTTCT AGTTCTGAAG GGAAAACGGA 2881 ATTTGATTTG GATGCTGACG GATCACTTCG TTTCTTCATT CTTGACGCTT ATGAGGAGGC 2941 TTTTGGTGCG AGCATGGGCA CAATATATCT GTTTGGGAAG gtgaatctct agatttttca 3001 ttcatttttta aagttgttct tttggcctta atctagagaa tgaattcgggt ctctcttttt 3061 ttaacaattc agGTTAAAAAT GGGAGATACT TACAAGAGTT GCTGTGTGGT AGTTAAGAAT 3121 ATCCAGAGGT GTGTTTATGC TATTCCAAAT GATTCCATAT TTCCTTCCCA TGAAGTAATC 3181 ATGCTCGAGC AAGAGGTGAA AGACTCTCGA CTTTCTCCTG AATCCTTCCG TGGGAAATTG 3241 CAT gtgagtt tgactacctt tgttacatgc taagaggaag caatctattt tcctctgttg 3301 ttcattgttt ttggctgtgt cttctcag GA AATGGCATCA AAAGTGAAGA ACGAAATTGC			
18A El MiSeq de Illumina se fundamenta en una tecnología madura, basada en la generación de colonias en fase sólida y el uso de terminadores fluorescentes reversibles, la más extendida en la actualidad en el ámbito de la secuenciación masivamente paralela, la misma que emplean otras máquinas (HiSeq) de Illumina, con las que es compatible. Su tasa de error es la más baja del mercado.			
18B El Ion Proton se basa en una tecnología muy madura y en continua evolución, la de los semiconductores, que hace posible la detección masivamente paralela de los cambios de pH que genera la polimerasa del ADN al formar un puente fosfodiéster. La utilidad del Ion Proton depende fundamentalmente de un consumible, su chip, cuya capacidad de secuenciación aumentará con las sucesivas versiones que irán apareciendo. No depende de ningún dispositivo óptico ni de la emisión de fluorescencia, por lo que las lecturas de zonas homopoliméricas no son erróneas. Su química es más simple, y los reactivos que consume, mucho más baratos, que los de la competencia. Procesa una muestra en tan solo 4 horas.			

Área de Genética
Universidad Miguel Hernández

Departamento de Biología Aplicada
Grado en Biotecnología
Curso 2012-13

Hoja de respuestas a la serie 10 de problemas

Apellidos:	Nombre:
19A	
19B	
19C	
19D	
19E	
19F	
19G	
19H	
19I	
20A	
20B	
20C	
20D	
20E	
20F	
20G	
20H	
20I	

Problemas

1.- Se ha descubierto una bacteria que solo utiliza un codón de terminación: UGA. Empleando el código genético de la Tabla 1, escribe la secuencia del ARNm que codifica en dicha bacteria el péptido MW (H_2N -MWMWMW-COOH) (en 1A), la de la cadena del ADN a partir de la cual se ha transcrito el precursor de dicho ARNm (en 1B), y la de su complementaria (en 1C). Indica en los tres casos cuáles son los extremos 5' y 3' de la secuencia y escríbela ubicando el extremo 5' a la izquierda, y el 3', a la derecha. ¿Qué cadena del ADN es la que se denomina "con sentido" y cuál la "antisentido"? Responde a este respecto B o C en 1D y 1E, respectivamente.

Se obtuvieron tres alelos mutantes del gen *MW*: *mwa* es portador de un cambio de base $G \rightarrow A$ en el sexto nucleótido de la secuencia codificante del gen (contando a partir de su extremo 5'); *mwb*, de una delección del sexto nucleótido; y *mwc*, de la inserción de una A inmediatamente después del quinto nucleótido. Escribe en 1F, 1G y 1H las secuencias de los péptidos mutantes MWA, MWB y MWC, respectivamente, indicando expresamente cuáles son sus extremos amino (H_2N -) y carboxilo (-COOH). Escribe la secuencia con el extremo amino a la izquierda, y el carboxilo, a la derecha.

2.- El plásmido pALI0 de *Escherichia coli* fue purificado y sometido a digestiones simples y dobles con cuatro endonucleasas de restricción, a fin de llevar a cabo su cartografía de restricción. Los fragmentos de restricción fueron sometidos a electroforesis en un gel del 1,5% en agarosa teñido con bromuro de etidio (Figura 1). Las bandas así obtenidas se visualizaron en un documentador de geles con el resultado que muestra la Figura 2. Dibuja en 2A un mapa (circular) de restricción del plásmido, indicando en kb las distancias entre las dianas de las restrictasas. Para resolver este problema no se requiere una precisión superior a 0,5 kb.

Tabla 1.- Código genético
Segunda base

		Segunda base							
		U		C		A		G	
Primera base	U	UUU	F	UCU	S	UAU	Y	UGU	C
		UUC	F	UCC	S	UAC	Y	UGC	C
		UUA	L	UCA	S	UAA	Stop	UGA	Stop
		UUG	L	UCG	S	UAG	Stop	UGG	W
	C	CUU	L	CCU	P	CAU	H	CGU	R
		CUC	L	CCC	P	CAC	H	CGC	R
		CUA	L	CCA	P	CAA	Q	CGA	R
		CUG	L	CCG	P	CAG	Q	CGG	R
	A	AUU	I	ACU	T	AAU	N	AGU	S
		AUC	I	ACC	T	AAC	N	AGC	S
		AUA	I	ACA	T	AAA	K	AGA	R
		AUG	M	ACG	T	AAG	K	AGG	R
	G	GUU	V	GCU	A	GAU	D	GGU	G
		GUC	V	GCC	A	GAC	D	GGC	G
		GUA	V	GCA	A	GAA	E	GGA	G
		GUG	V	GCG	A	GAG	E	GGG	G

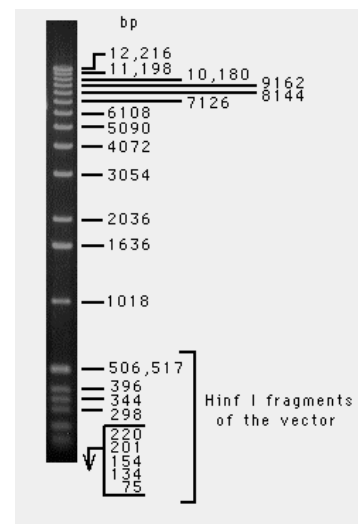


Figura 1.- Tamaño (en pb) de las moléculas del marcador de peso molecular 1 kb DNA Ladder de Invitrogen.

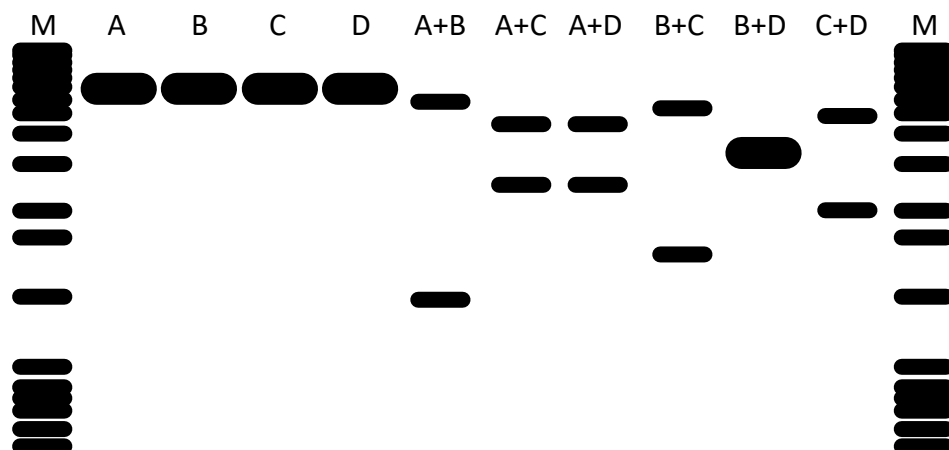


Figura 2.- Visualización de los fragmentos de pALI0 obtenidos tras su restricción con AatI (A), BamHI (B), CspI (C) y DraIII (D). M: marcador de peso molecular (1 kb DNA Ladder).

Explica en 2B el motivo de que el grosor de las bandas de las calles A, B, C, D y B+D del gel sea diferente del de las otras. Responde “Arriba” o “Abajo” al respecto de la posición de los pocillos del gel (en 2C), el cátodo (en 2D) y el ánodo (en 2E) en la imagen de la Figura 2.

Se realizó una electroforesis como la de la Figura 2 con una muestra del plásmido pAL10 sin digerir, obteniéndose dos bandas, cuyas movilidades electroforéticas eran similares a las de 6 y 9 kb del marcador de peso molecular. La banda de 6 kb fue más gruesa que la de 9 kb. Explica en 2F la naturaleza de las moléculas de pAL10 que contienen estas dos bandas. Explica en 2G cuántas bandas esperarías obtener de una digestión doble y parcial (incompleta) de pAL10 con *AatI* y *CspI*, indicando sus pesos moleculares aparentes.

3.- Se obtuvieron disoluciones de gran pureza de (1) ADN monocatenario circular, (2) ADN monocatenario lineal, (3) ADN bicatenario con extremos 5' sobresalientes, (4) ADN bicatenario con extremos 3' sobresalientes, (5) ADN bicatenario con extremos romos, (6) ADN bicatenario circular superenrollado, y (7) ARNm de un eucariota unicelular. Cada muestra fue tratada separadamente con nucleasa S1 (S), Bal31 poco concentrada (B), DNasa I en presencia de Mn^{2+} (D), RNasa A (RA) y RNasa H (RH). Completa la Tabla 2 detallando si en cada experimento se modificó o no el sustrato, y cuál fue, en su caso, la naturaleza de los productos de reacción (nucleótidos u oligonucleótidos, moléculas mono o bicatenarias, y con extremos romos o sobresalientes 5' o 3').

Tabla 2

Muestra	Enzima	Naturaleza de los productos de reacción
1	S	
2	S	
3	S	
4	S	
5	S	
6	S	
7	S	
1	B	
2	B	
3	B	
4	B	
5	B	
6	B	
7	B	
1	D	
2	D	
3	D	
4	D	
5	D	
6	D	
7	D	
1	RA	
2	RA	
3	RA	
4	RA	
5	RA	
6	RA	
7	RA	
1	RH	
2	RH	
3	RH	
4	RH	
5	RH	
6	RH	
7	RH	

4.- Las moléculas de ADN bicatenario que se representan en la Figura 3 tienen grupos fosfato en sus extremos 5', e hidroxilos en los 3'. Indica qué enzimas emplearías —y si se requieren dos o más, en qué orden— y en su caso, qué sustratos adicionales, para: reparar la molécula A, rellenando el hueco que presenta (en 4A); para añadir colas homopoliméricas poli(A) a los extremos 3' de B (en 4B); para cortar C mediante dos reacciones distintas, a fin de obtener en cada una dos fragmentos, de manera que cada uno de ellos retenga un grupo metilo (describe una reacción en 4C y la otra en 4D); para reparar la mella señalada con un flecha en D (de dos maneras distintas, una en 4E y otra en 4F); para circularizar E (en 4G); y para circularizar F (en 4H). Las circularizaciones a las que se hace referencia en este problema ocurren *in vitro* y dan lugar a moléculas circulares covalentemente cerradas. Los puntos suspensivos indican partes de la secuencia que no se representan a fin de simplificar la figura. Debe proponerse la solución más sencilla posible en cada caso.

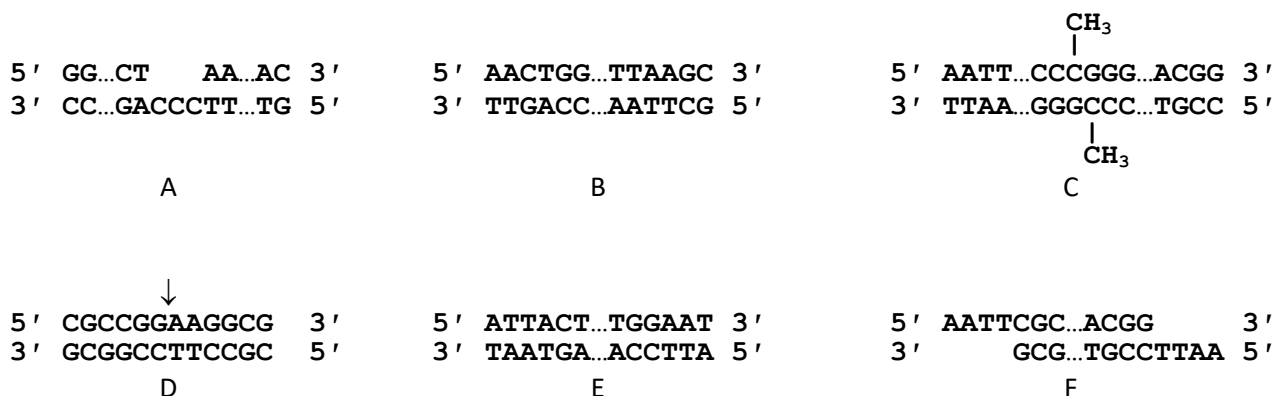


Figura 3.- Los puntos suspensivos indican partes de la secuencia cuya representación se omite para simplificar la figura.

5.- Interpreta la Figura 4 explicando la función natural (actividad enzimática del producto génico; en 5A, 5C y 5E) y el uso habitual en Ingeniería Genética (especificando la parte relevante del genotipo de las células hospedadoras y de la composición del medio de cultivo; en 5B, 5D y 5F) de los genes *HIS3*, *TRP1* y *URA3*, respectivamente. Indica en 5G a 5I para qué especie de células hospedadoras son útiles los tres marcadores seleccionables mencionados. Explica sucintamente en 5J a 5L la función de las secuencias *ARS1*, *CEN4* y *TEL*, respectivamente.

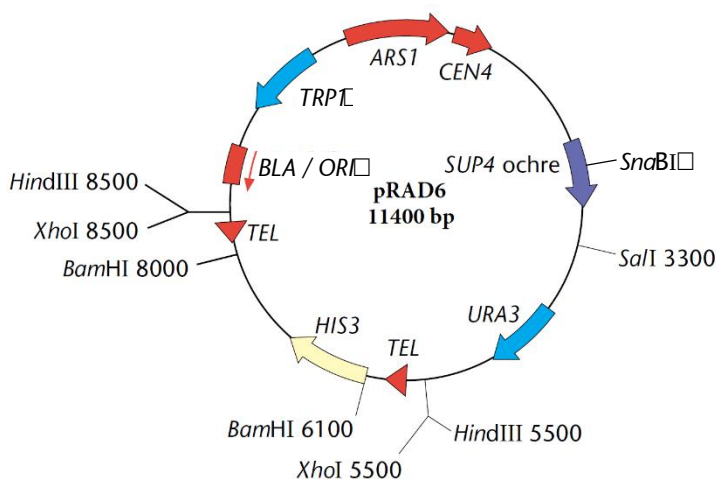


Figura 4.- Mapa del vector pRAD6.

6.- Empleando la información que proporcionan las Figuras 4 y 5, explica qué consecuencias tiene la digestión del vector pRAD6 con *Bam*HI (en 6A), *Hind*III (en 6B) o *Sna*BI (en 6C). ¿Con qué enzimas se ha digerido la molécula de la Figura 5(a) para obtener las de la parte izquierda de 5(b)? Responde en 6D. Explica en 6E cómo se discriminarían las células portadoras de la molécula que se representa en 5(c) de las que hubiesen incorporado la de 5(a). Para ello, indica la parte relevante del genotipo de las células hospedadoras y la composición del medio de cultivo adecuados para la transformación. Para la resolución de este apartado del problema se requiere una búsqueda en Internet de información sobre la función de *SUP4 ochre*.

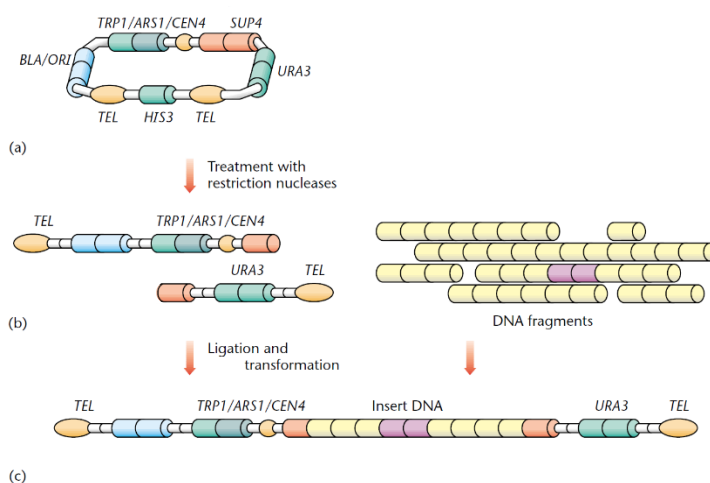


Figura 5.- Un ejemplo de uso del vector pRAD6. Los fragmentos de colores amarillo y violeta que se representan en (b) se obtuvieron mediante restricción de ADN genómico humano.

7.- Se dispone de los vectores pBR322, pUC18 y pGEM-3Z para llevar a cabo cinco experimentos de clonación, cada uno de ellos con una molécula de ADN lineal y bicatenaria distinta. Los extremos de estas últimas se obtuvieron previamente mediante las restricciones simples o dobles que se indican en la Tabla 3.

Tabla 3

Clonación	Vector	Extremos del inserto
1	pBR322	Ambos digeridos con <i>PvuI</i>
2	pBR322	Ambos digeridos con <i>SalI</i>
3	pBR322	Ambos digeridos con <i>HindIII</i>
4	pUC18	Uno digerido con <i>EcoRI</i> y el otro con <i>HindIII</i>
5	pGEM-3Z	Ambos con <i>StuI</i>

Indica en 7A, 7C, 7E, 7G y 7I las restricciones que se requerirán para la digestión del vector previa a su ligación con los insertos 1 a 5, respectivamente, y qué gen interrumpirá su acción endonucleolítica. Indica en 7B, 7D, 7F, 7H y 7J, también respectivamente, la parte relevante del genotipo de las células hospedadoras y de la composición del medio de cultivo, y explica sucintamente el método de selección apropiado en cada caso para obtener transformantes que hayan incorporado una molécula recombinante (un vector con inserto). Si esto último no fuese posible, explica el motivo.

8.- Con el propósito de clonar y posteriormente subclonar el gen de la tiroperoxidasa humana (TPO), se procedió a su amplificación mediante PCR empleando como molde ADN purificado a partir de una muestra de saliva. Se representa en la Figura 6 parte de la secuencia de la región del cromosoma 2 en la que se encuentra *TPO*. Se llevaron a cabo varias amplificaciones, en cada una de las cuales se emplearon los oligonucleótidos y polimerasas termoestables que se indican en la Tabla 4. Propón en 8A-8C un programa de termociclaje para las amplificaciones 1-3, respectivamente, asumiendo que las polimerasas *Taq* y *Pfu* sintetizan ADN a razón de 500 nt por minuto. Indica expresamente en los programas de termociclaje el número de ciclos, la temperatura (con una precisión de 0,5°C) y duración de sus etapas, en minutos (min) y/o segundos (s).

5' -ACTG.....TTTTTTACGATCTGGTGTACCGGTCA.....CTAGCGTCTACTGTGGATGGCAAAAAA.....AGCG-3'

57000 58500 61000 63500 pb

Figura 6

Tabla 4

Amplificación	Polimerasa	Oligonucleótidos empleados como cebadores (5'→3')	
1	<i>Taq</i>	ACGATCTGGTGTCAACCGGTCA	GCCATCCACAGTAGACGCTAG
2	<i>Taq</i>	CCGAATTCACGATCTGGTGTCAACCGGTCA	CCGAATTCGCCATCCACAGTAGACGCTAG
3	<i>Pfu</i>	ACGATCTGGTGTCAACCGGTCA	GCCATCCACAGTAGACGCTAG

Se obtuvo un único producto de PCR de cada una de las tres amplificaciones, de unas 2,5 kb de longitud, según indicó su visualización en un gel de agarosa teñido con bromuro de etidio. Se empleó el vector pGEM-T Easy para clonar el producto de la amplificación 1, y pGEM-3Z para los de las amplificaciones 2 y 3. Describe sucintamente en 8D-8F las reacciones necesarias para unir covalentemente dichos vectores a los productos de las amplificaciones 1-3, respectivamente, indicando el orden en que deben llevarse a cabo y las enzimas necesarias. Debe proponerse la solución más sencilla posible en cada caso (la de menor número de etapas y componentes de cada reacción).

Para la subclonación de *TPO*, se digirió con *Bsa*BI la molécula recombinante obtenida con pGEM-T Easy. Explica sucintamente en 8G esta reacción, indicando el origen de la diana *Bsa*BI, el número de fragmentos de restricción que se obtuvieron y sus tamaños en pb.

9.- Se han desarrollado varios métodos de modificación de moléculas de ADN basados en la recombinación. Varias de estas tecnologías se basan en la recombinación específica de sitio: Gateway, en la que la clonasa BP reconoce las secuencias *attB* y *attP*, mientras que la clonasa LR hace lo propio con *attL* y *attR*; Cre-lox, que emplea la recombinasa Cre del fago P1 de *Escherichia coli* y su secuencia diana, *loxP*; y FLP-FRT, que usa otra recombinasa, la flipasa (FLP) del plásmido de 2 μ de *Saccharomyces cerevisiae* y su secuencia diana, *FRT* (o algunas de sus variantes, como *F3*). Se ha dado en llamar recombinería (*recombineering*) a la ingeniería genética basada en la recombinación homóloga, como la del sistema Red/ET, que emplea las proteínas RecE y RecT del profago λ de *Escherichia coli* o las Red α y Red β de λ . A diferencia de los tres sistemas antes mencionados,

Red/ET no requiere una secuencia específica, y puede recombinar dos segmentos de ADN cualesquiera, siempre que presenten extremos homólogos.

Los ratones *knockout* (noqueados), en los que se inactiva total o condicionalmente un determinado gen, pueden obtenerse mediante la tecnología Cre-lox, a partir de un cruzamiento entre dos parentales transgénicos, uno de ellos *cre*, y el otro, *loxP*. Los ratones *cre* son portadores de un transgén que incluye el gen de la recombinasa Cre bajo el control de un promotor específico de tejido o inducible por alguna variable ambiental, como la alimentación con determinadas sustancias, entre ellas algunos antibióticos. Los ratones *loxP* también son transgénicos; se les han incorporado dos secuencias *loxP*, que flanquean el segmento genómico de interés, al que se denomina "floxado" (*floxed*; *flanked by loxP*). En la progenie *cre-lox* de un cruzamiento *cre* × *loxP*, la actividad del transgén *cre* puede causar la delección del locus floxado.

Tanto los ratones *cre* como los *loxP* pueden obtenerse construyendo un vector adecuado, con el que se transfectan células madre embrionarias en cultivo. En el genoma de algunas de estas células se integrará espontáneamente la molécula transfectada en posiciones aleatorias; muy pocas células incorporarán la molécula mediante recombinación homóloga. Tras confirmar la correcta inserción de un transgén en el genoma de las células hospedadoras, estas últimas son inyectadas en un embrión en estado de blastocisto, cuyo desarrollo posterior dará lugar a un ratón quimera, que presentará mosaicismo: algunas de sus células serán transgénicas y otras no. Si la línea germinal de este ratón es transgénica, parte de su progenie también lo será en heterocigosis, en este caso en todas las células del individuo.

Un BAC que contiene el gen *Champagne* (*CH*) de *Mus musculus* fue manipulado con el propósito de generar ratones transgénicos *loxP*, que pudieran ser posteriormente noqueados total o condicionalmente con la recombinasa Cre.

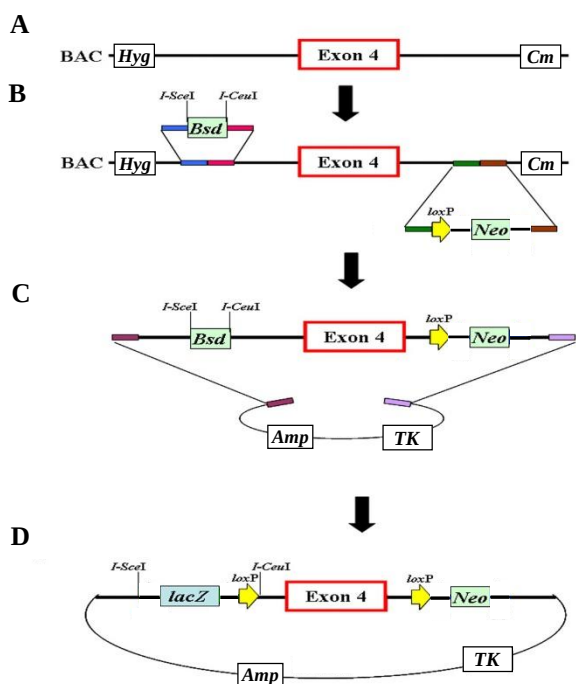


Figura 8

A fin de obtener los ratones *loxP* se construyó un vector para modificar el gen *CH* mediante recombinación homóloga (Figura 8). Cada una de las flechas verticales de esta Figura indica una etapa del proceso en la que fue necesario (1) aislar ADN plasmídico a partir de un cultivo bacteriano, (2) modificar las moléculas recombinantes así obtenidas, (3) utilizar las moléculas modificadas para realizar una transformación y (4) seleccionar las bacterias transformantes de interés. Indica en 9A cuatro características singulares que comparten las restrictasas *I-SceI* e *I-CeuI* que aparecen en la Figura 8. Indica en 9B cuál es la probabilidad de que el genoma humano contenga una secuencia idéntica a *loxP*, cuya longitud es de 34 pb.

Las moléculas 8B y 8C fueron obtenidas a partir de las 8A y 8B, respectivamente, mediante recombinación Red/ET. La molécula 8D fue obtenida a partir de la 8C mediante restricción y ligación. Interpreta la Figura 8 indicando en 9C a 9E la actividad del producto que codifican y cómo se usan (parte relevante del genotipo de las células hospedadoras y de la composición del medio de cultivo, y criterio de selección de los transformantes deseados) los genes *Bsd*, *Neo* y *Amp*, respectivamente.

El gen *TK* se utiliza como marcador selectivo en etapas posteriores a las descritas en la Figura 8, en las que se transfectan con la molécula 8D células embrionarias de ratón cultivadas en un medio suplementado con

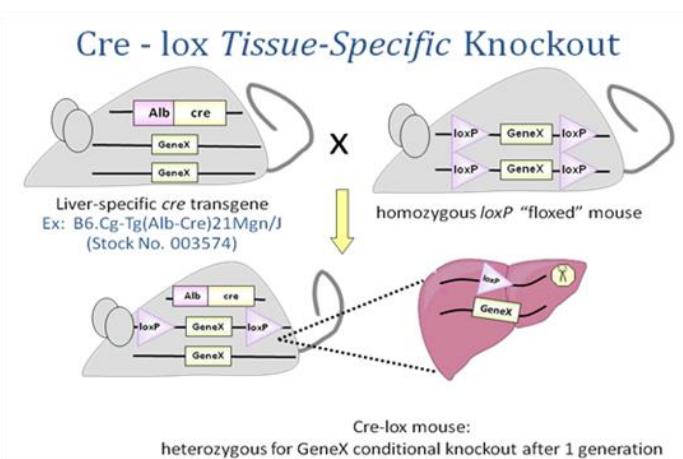


Figura 7

Se obtuvieron ratones en los que el cuarto exón del gen *CH* estaba flanqueado por secuencias *loxP* para permitir la delección específica de tejido del locus floxado. También se obtuvieron ratones portadores de un transgén en el que el gen *cre* está controlado por un promotor específico del hígado del ratón (Figura 7).

ganciclovir. Los genes *lacZ* (el alelo silvestre de *lacZ*) y *Neo* pueden utilizarse tanto en las etapas del proceso descritas en la Figura 8 como en las siguientes. Explica brevemente en 9F, 9G y 9H la utilidad de los genes *TK*, *lacZ* y *Neo*, respectivamente, en el proceso de obtención de ratones *loxP*.

10.- Se obtuvieron ratones *knockout* mediante la tecnología Cre-lox, con el fin de estudiar los efectos de la inactivación de diferentes genes *Fat*. Se empleó el método de Southern para confirmar que el alelo silvestre (WT) de estos genes había sido modificado, extrayendo ADN a partir de muestras de sangre de dichos ratones, que fue restringido, sometido a electroforesis en un gel de agarosa teñido con bromuro de etidio, transferido a una membrana e hibridado con una sonda (*probe*) no isotópica, con los resultados que muestra la Figura 9. Interpreta dicha figura, explicando brevemente en 10A, 10B y 10C los patrones de bandas que aparecen en las autorradiografías.

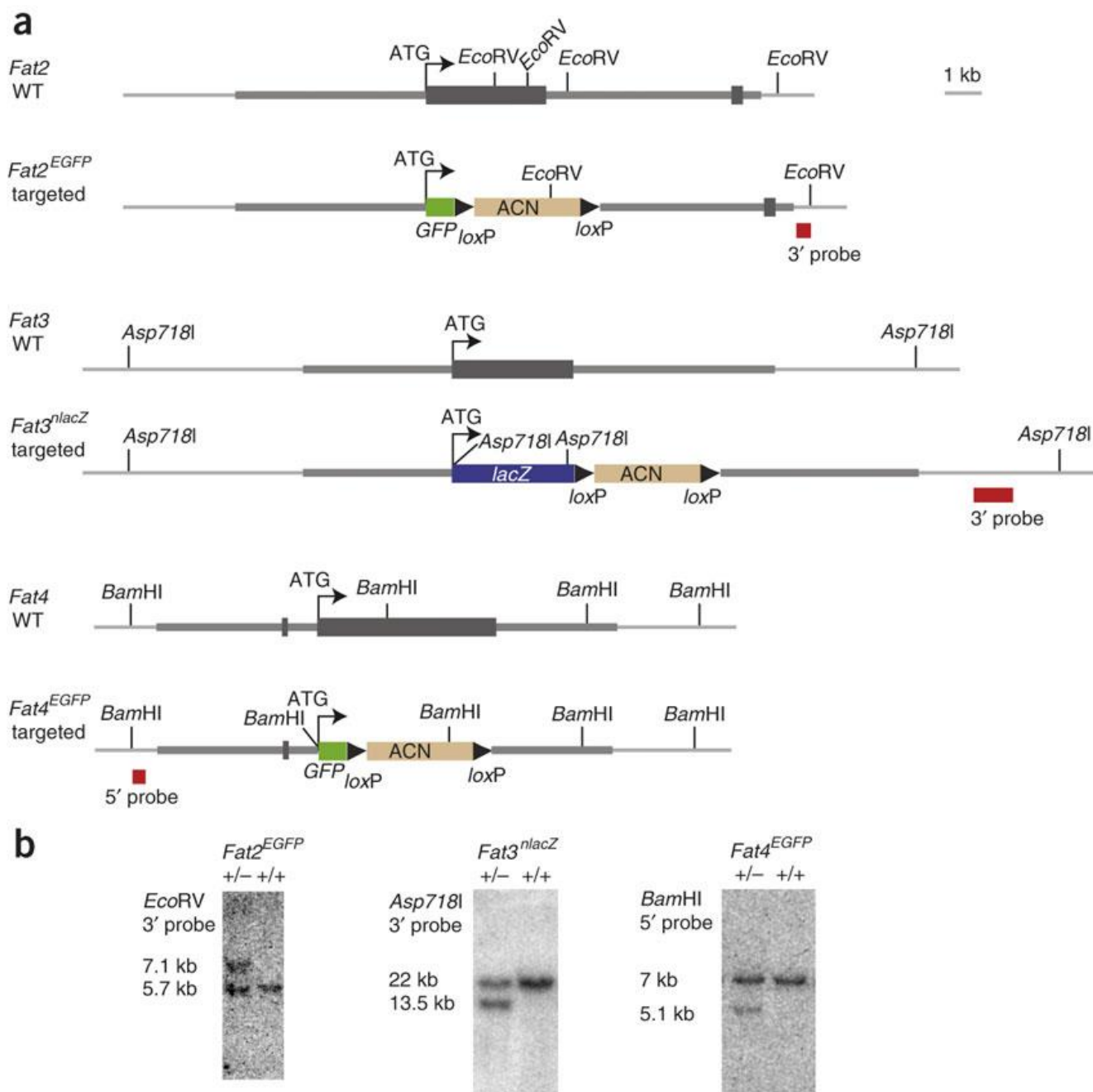


Figura 9.- Comprobación del genotipo para tres genes *Fat* en ratones noqueados y su tipo silvestre. Se indica en cada caso la restrictasa empleada para la digestión del ADN genómico, la sonda con la que se hibridó y los tamaños de las bandas obtenidas. +/+ : Ratón homocigótico para el alelo silvestre (WT) de un gen *Fat* (*Fat2/Fat2*, por ejemplo). +/- : Ratón heterocigótico para los alelos silvestre y noqueado de un gen *Fat* (*Fat2/Fat2^{EGFP}*, por ejemplo). ATG: codón de iniciación de la traducción.

11.- Empleando el código genético de la Tabla 1, diseña dos oligonucleótidos degenerados con los que se pueda amplificar mediante PCR un segmento de los genes que codifican las proteínas homólogas cuya secuencia se

representa parcialmente alineada en la Figura 10, que pertenecen a diferentes especies de animales. Dichos oligonucleótidos sintéticos deben ser de 20 o 21 nt y el segmento genómico que amplifiquen debe ser el de mayor tamaño posible.

Escribe en 11A y 11B la secuencia de los dos cebadores, con indicación de sus extremos 5' y 3'. Escribe la secuencia con el extremo 5' a la izquierda, y el 3', a la derecha. Indica en 11C la longitud, en pb, del producto de amplificación que se obtendrá con dichos cebadores empleando como molde ADNc de cualquiera de los animales mencionados en el párrafo anterior y la polimerasa *Pfu*.



Figura 10.- Alineamiento parcial de varias proteínas ortólogas (A-F) de la familia del TGF- β . Los aminoácidos idénticos se somborean en negro, y los similares, en gris.

Se obtuvieron muestras de ADN genómico (1) y de ADNc (2 y 3) de cada uno de los animales antes mencionados (A - F). En las muestras de ADNc se logró (3) o no (2) eliminar completamente el ADN genómico. Su amplificación mediante PCR con dos oligonucleótidos degenerados rindió los productos que se visualizan en el gel de agarosa teñido con bromuro de etidio que aparece en la Figura 11, en la que se ha omitido la representación de las bandas del marcador de peso molecular.

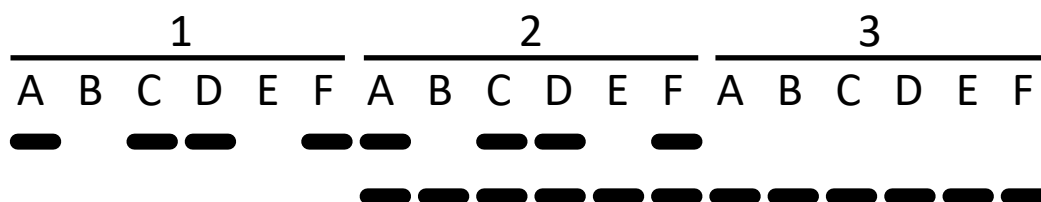


Figura 11

Explica en 11D y 11E cuál es el origen de las bandas de mayor y menor tamaño, respectivamente, que aparecen en el gel. Formula en 11F una hipótesis que justifique las diferencias entre el comportamiento de las muestras de los animales de las especies B y E, y el de las restantes.

12.- Se representa en la Figura 12 la segregación de una enfermedad hereditaria muy rara. También se muestra para cada miembro de la familia el tamaño de las bandas obtenidas en la visualización de un marcador ligado al gen causante de la enfermedad. Explica en 12A el modo de herencia del marcador, y en 12B, el de la enfermedad. Indica en 12C, 12D y 12E y 12F si es posible que padezca la enfermedad algún hijo o hija de III-1, III-2, III-3 o III-4, respectivamente. Explica en 12G si la parte inferior de la Figura 12 puede corresponder a un RFLP visualizado por el método de Southern, a la amplificación mediante PCR de un polimorfismo, o a ambos.

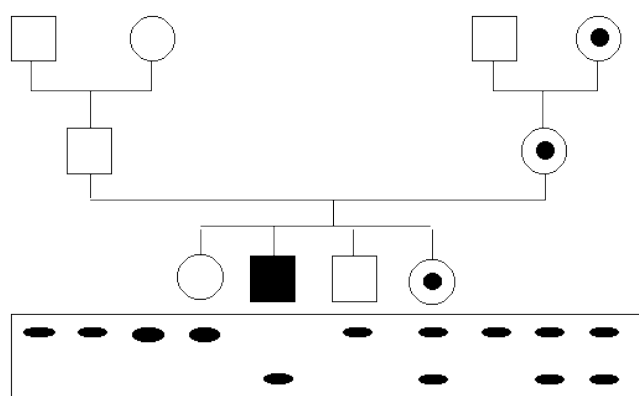


Figura 12

Aunque se desconoce la identidad del gen *HEY*, que causa una enfermedad autosómica recesiva que resulta letal durante la infancia, se ha establecido la región del cromosoma 5 humano en la que se encuentra. Uno de los cuatro hijos de una pareja manifestó dicha enfermedad, tal como muestra el árbol genealógico de la Figura 13. Se intentó el diagnóstico prenatal del quinto hijo de I-2 mediante el método de Southern, empleando para ello un RFLP ligado al gen *HEY*. Los alelos silvestre (sano) y mutante del gen *HEY* se denominan *H* y *h*, respectivamente; los alelos del RFLP se denominan 7, 9 y 12, según los tamaños de las bandas que manifiestan en el análisis de Southern de la Figura 13. Indica en 12H y 12I el genotipo de los individuos I-1 e I-2, respectivamente, para el gen causante de la enfermedad. Indica en 12J los haplotipos de I-1, y en 12K los de I-

2, para el RFLP y el gen *HEY*. ¿Qué hijos sanos de I-1 y I-2 son portadores del alelo *h* del gen *HEY*? Responde en 12L. ¿Cuál es el diagnóstico de II-5? Responde en 12M.

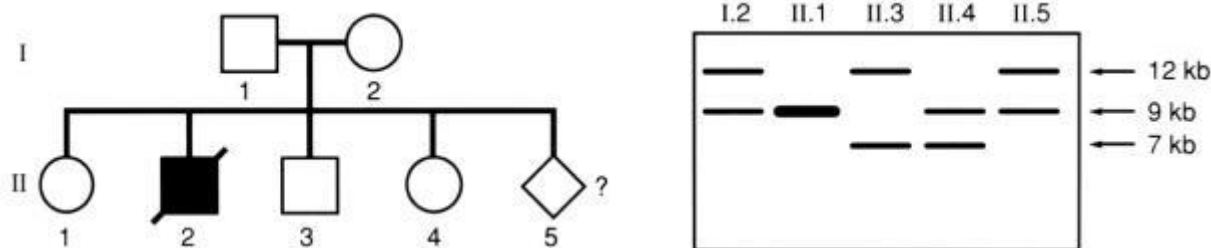
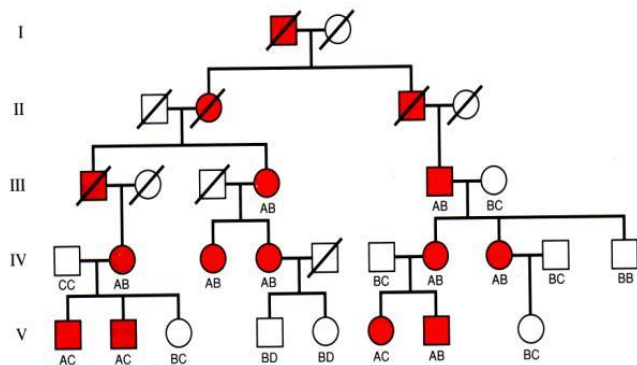
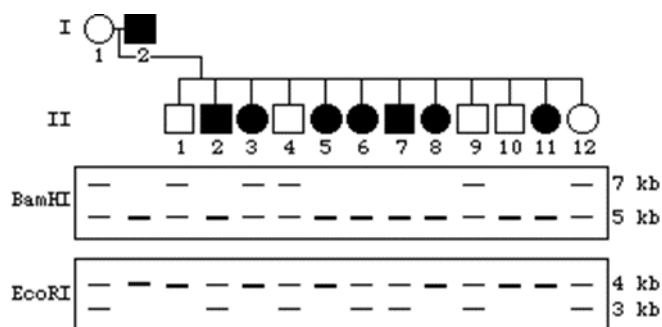


Figura 13

**Figura 14**

El árbol genealógico de la Figura 14 muestra la herencia autosómica dominante de una alteración de la visión, y el genotipo de los individuos de las tres últimas generaciones de una familia para un polimorfismo de una región del cromosoma 2. Este polimorfismo se ha visualizado por el método de Southern, empleando como sonda ADNc del gen de la cristalina β , una proteína del cristalino. ¿Apoya la Figura 14 la hipótesis de que el gen de la cristalina β causa la enfermedad a estudio? Explica tu respuesta en 12N.

13.- El árbol genealógico de la Figura 15 representa la segregación de una enfermedad autosómica recesiva. Explica en 13A a 13C si este árbol genealógico es compatible también con los modos de herencia autosómico dominante, ligado al sexo dominante y ligado al sexo recesivo, respectivamente. Se representan también en la Figura 15 los resultados del análisis de Southern de dos RFLP, uno de los cuales rinde fragmentos de restricción de 7 y 5 kb tras una digestión de ADN genómico con *Bam*HI, y el otro, de 4 y 3 kb con *Eco*RI.

**Figura 15**

¿Cuál de los dos RFLP (el de *Bam*HI o el de *Eco*RI) está ligado al gen causante de la enfermedad? Emite una respuesta razonada en 13D. Indica en 13E si tu hipótesis requiere que algunos de los individuos de la generación II sean recombinantes, y quiénes son.

14.- *SHY*, un gen del cromosoma X, causa una enfermedad dominante que se manifiesta con anticipación. La secuencia de una parte de *SHY* en el individuo I-1 de la Figura 16 es la siguiente: 5'-CGTAGTAGAGTTAGCCGGGCGGCCGGCGGCCGGCGGCCGGCGGCCGGCGGCCGGCGGCCGGCGGCCGGCGGCCGGCGGCCGGCGGCCGCATATCGTTAATTATGCGCTCAGGCACCGGACCC-3'. Se diseñaron y sintetizaron dos oligonucleótidos para la amplificación de esta región del cromosoma X, cuyas secuencias son 5'-CGTAGTAGAGTTAGCCGGGC-3' (UMHIG1) y 5'-GGGTCCGGTGCCTGAGCGCA-3' (UMHIG2). Todos los intentos de obtener productos específicos de amplificación mediante PCR con los cebadores UMHIG1 y UMHIG2 fracasaron.

Se diseñó y sintetizó otro oligonucleótido, 5'-TCCGGTGCCTGAGCGCATAA-3' (UMHIG3). Las amplificaciones realizadas con UMHIG1 y UMHIG3 como cebadores y como molde ADN de los miembros de la familia a estudio se completaron sin dificultad alguna y condujeron a los resultados que muestra la Figura 16. Formula una hipótesis en 14A que explique el comportamiento de cada una de las dos parejas de cebadores.

Los productos de PCR que se representan en la Figura 16 tienen 179, 173, 167, 158, 107 y 98 pb. Explica en 14B las diferencias entre las secuencias de los cuatro alelos del gen *SHY* de mayor longitud y las de los otros

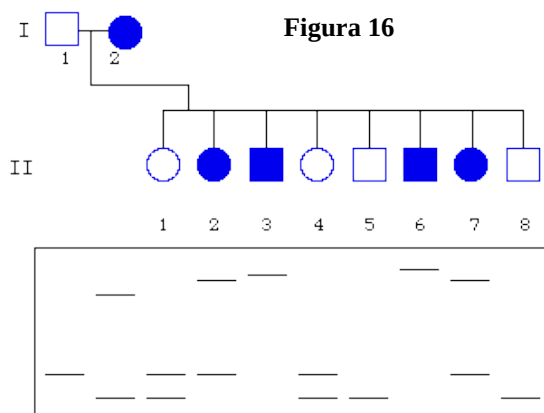


Figura 16

dos. Propón en 14C la causa molecular más plausible de la enfermedad. Formula en 14D una hipótesis sobre el origen de los cuatro alelos causantes de la enfermedad, indicando en qué proceso se ha producido una disfunción, y en su caso, qué enzima la ha causado.

15.- Se espera que nuestro planeta esté poblado por unas 10^{10} personas antes de que finalice el siglo. Asumiendo que dicha población estuviera en equilibrio de Hardy-Weinberg y que en ella existiera un marcador genético bialélico tal que todos los individuos fueran homocigóticos para uno de sus dos alelos (A1), salvo dos heterocigotos, ¿cuál será la frecuencia esperada de homocigotos para el alelo minoritario (A2) en la generación siguiente? Responde en 15A.

La Figura 17 muestra los resultados del genotipado con fines forenses de dos personas. Explica en 15B y 15C qué magnitud se representa en el eje de abscisas y el de ordenadas, respectivamente, y en 15D, a qué se debe y para qué sirve que los picos sean de diferentes colores. Indica en 15E y 15F qué marcadores parecen estar en homocigosis en los individuos A y B, respectivamente. Explica en 15G y 15H la función natural y el uso forense, respectivamente, del gen de la amelogenina. Indica en 15I el sexo del individuo A, y en 15J, el de B.

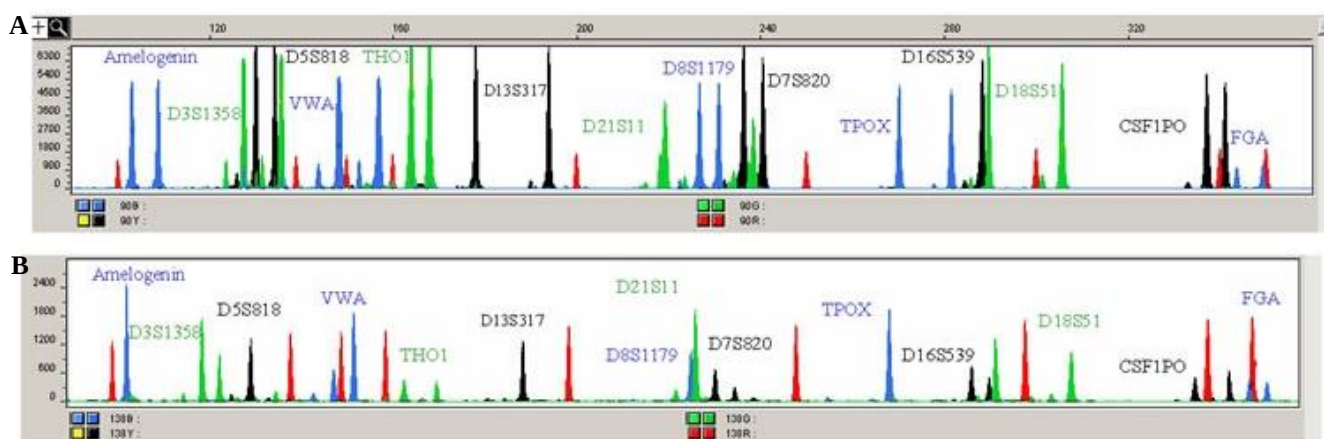


Figura 17.- Electroferogramas obtenidos del genotipado con fines forenses de dos personas (A y B), realizado en un secuenciador ABI PRISM 3130xl tras la amplificación mediante PCR múltiple de varios microsatélites polimórficos, cada uno de los cuales aparece indicado por su nombre. Los picos de color rojo corresponden al marcador de peso molecular.

16.- La fibrosis quística es una enfermedad autosómica recesiva causada por los alelos mutantes del gen de la proteína reguladora de la conductancia transmembrana de la fibrosis quística (CFTR), el más frecuente de los cuales se denomina $\Delta 508$. Se han descrito unos 1.500 alelos mutantes de este gen, que causan entre otros síntomas la acumulación de mucílago en los pulmones, que a su vez propicia infecciones que pueden resultar mortales.

Varios miembros de una familia fueron genotipados para el gen de la CFTR empleando sondas específicas de alelo. Se usaron para ello los oligonucleótidos 5'-CACCAAAG ATATTTTCGG-3' (normal) y 5'-CACCAATATTTTCGG-3' ($\Delta 508$) y se obtuvieron los resultados que muestra la Figura 18. Este tipo de ensayo es rápido y económico pero puede rendir falsos negativos.

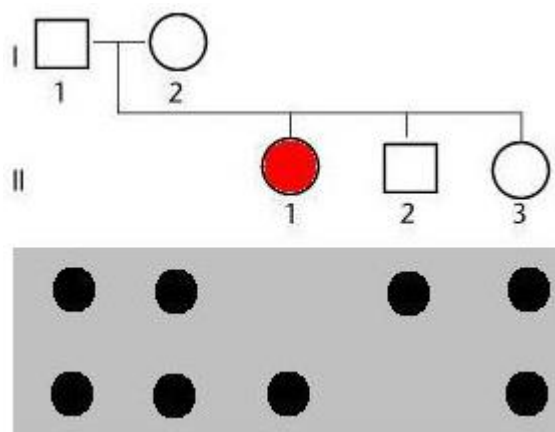


Figura 18

Indica en 16A y 16B las temperaturas de fusión de cada uno de los dos oligonucleótidos, con una precisión de dos cifras decimales. Indica en 16C si la hibridación con el oligonucleótido $\Delta 508$ se representa en la fila superior o la inferior del *dot blot* de la Figura 18. Explica en 16D si las dos hibridaciones que se representan en filas distintas en la Figura 18 pueden llevarse a cabo a la misma temperatura. Indica en 16E cuál de los individuos del árbol genealógico podría ser un falso negativo y propón en 16F un procedimiento que permita concluir inequívocamente si es o no portador del alelo $\Delta 508$.

Muchos ensayos inicialmente basados en el método de Southern han sido modificados para usar una amplificación mediante PCR como alternativa a la hibridación entre una sonda y su diana. Un ejemplo de ello es el genotipado con oligonucleótidos específicos de alelo, basado tradicionalmente en hibridaciones que han sido

sustituidas en no pocos casos por amplificaciones. La Figura 19 muestra los resultados de un ensayo de genotipado realizado en una piscifactoría mediante PCR con cebadores específicos de alelo.

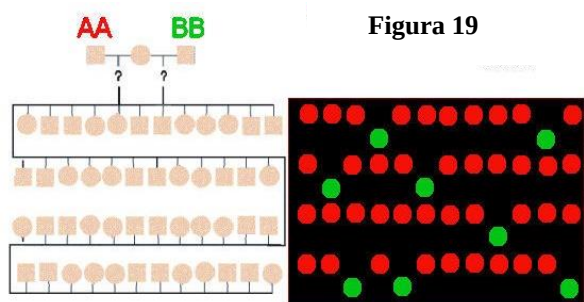


Figura 19

El ensayo fue realizado por un acuicultor, que disponía de machos de dos variedades de una especie de peces y deseaba averiguar cuáles eran los de mayor eficiencia reproductiva. Con este fin, se seleccionaron 10 machos de cada una de las variedades mencionadas para que fecundasen los huevos de 20 hembras de una tercera variedad. Los machos eran AA y BB, y las hembras, CC, cada uno de ellos homocigótico para un distinto SNP (*Single Nucleotide Polymorphism*; polimorfismo de un solo nucleótido) del gen *hoxd13*.

Un mes después del desove se genotipó con oligonucleótidos específicos de alelo la progenie de los peces a estudio, con los resultados que muestra la Figura 19. Interpreta esta figura, explicando brevemente en 16G qué representan los círculos rojos y verdes, y en 16H a qué conclusión puede llegar el acuicultor. ¿Cuántos oligonucleótidos distintos ha utilizado el acuicultor? Responde razonadamente en 16I.

Un pescador que vendía vieiras en una lonja de la costa este estadounidense fue multado por haber realizado capturas en veda cerrada. La Figura 20 representa los resultados obtenidos por la policía científica, en los que se basó la decisión de multar al pescador, acusado de capturar indiscriminadamente dos especies de vieiras de morfología muy similar: gigantes de Canadá (*Placopecten magellanicus*, en veda abierta) e islandesas (*Chlamys islandica*, en veda cerrada). Interpreta la Figura 20 en 16J.

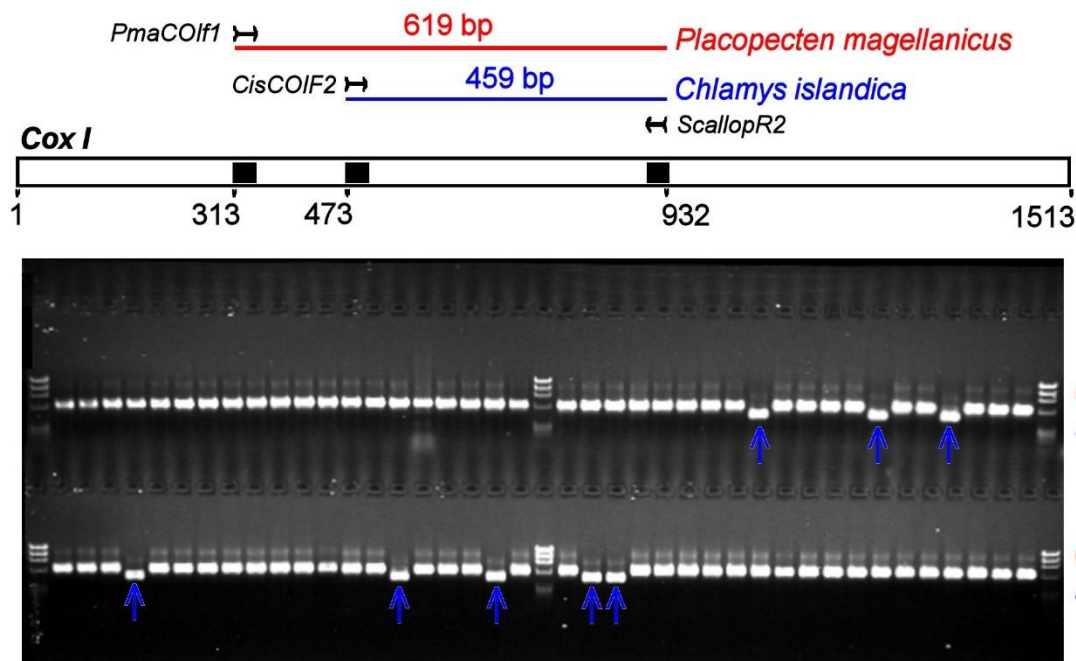


Figura 20

17.- Existen muchas páginas web que contienen programas de dominio público que permiten el análisis y la manipulación de secuencias nucleotídicas y peptídicas. Destaca por su sencillez la Sequence Manipulation Suite (SMS), cuyo sitio web es <http://www.bioinformatics.org/sms2/>. Obtén en GenBank información sobre el gen de la Huntingtina (HTT) humana (NM_002111.6). ¿Cuál es la longitud del gen *HTT* (en kb) y su número de exones? ¿Cuál es la longitud (en kb) de sus ARN mensajeros? ¿Cuál es el tipo de alelos mutantes de *HTT* que se han descrito con más frecuencia y cómo perturban la expresión del gen? Responde en 17A-E, respectivamente.

Emplea los programas de la SMS para responder las siguientes preguntas en los apartados de la hoja de respuestas que se indican. ¿Cuál es el codón de la arginina más usado en el gen *HTT*? (17F). ¿Qué endonucleasas de restricción no cortarían (17G) o cortarían más de 40 veces (17H) un ADNc bicatenario retrotranscrito a partir del ARNm de *HTT*? Motiva brevemente en 17I y 17J las respuestas que has emitido en 17G y 17H, respectivamente, comentando qué propiedad de estas enzimas justifica su número de cortes.

18.- Se diseñaron cuatro oligonucleótidos para amplificar mediante PCR un gen viral: 5'-ACGTGTGCACAGTAGCACAC-3' (UMHIG4), 5'-CGTGCGCGGATATCATATA-3' (UMHIG5), 5'-TGTATAGCAGTA

GCCGCGC-3' (UMHIG6) y 5'-CCATTGCACAGTAGACCCC-3' (UMHIG7). Analízalos con los programas de la SMS y explica en 18A-D para cada uno de ellos si debe ser descartado o aceptado para su uso como cebador.

El archivo “[Problema18IG2013-14.txt](#)” depositado en la página web de la asignatura contiene las secuencias de gp120, una de las glicoproteínas de la superficie de la envoltura del retrovirus que causa el síndrome de la inmunodeficiencia adquirida humana (SIDA), en algunas de las variantes de este retrovirus y de otros relacionados, que se han aislado en varias especies de primates. Alinea con Clustal Omega estas secuencias y copia y pega en 18Ea y 18Eb el alineamiento, modificando si fuese necesario el tamaño y el tipo de letra (usa la fuente Courier New) para que conserve su estructura. En base al alineamiento así obtenido, propón en 18F dos secuencias de aminoácidos a partir de las que pudiera diseñarse una pareja de oligonucleótidos degenerados que permitiese la amplificación de un segmento de la máxima longitud posible del gen de la gp120 de cualquiera de los retrovirus a estudio.

19.- Las lecturas que realiza un secuenciador masivo deben ser alineadas con la secuencia de un genoma de referencia una vez finalizada la secuenciación de una muestra. Se denomina resecuenciación a este tipo de experimentos; se denomina ensamblaje *de novo* al alineamiento de lecturas entre sí, sin un genoma de referencia. Existen varios programas que han sido diseñados para llevar a cabo y/o visualizar ambos tipos de alineamientos, que utilizan una lógica similar a la de Clustal.

La Figura 21 representa una pantalla de ordenador, en la que aparece parte de un alineamiento de lecturas obtenidas en un secuenciador masivo a partir del ADN de una muestra de sangre de una sola persona. El alineamiento se obtuvo con *Tablet*, un programa de dominio público. La parte superior de la pantalla representa alineadas las lecturas de una pequeña parte del genoma a estudio, de 2.259 nt de longitud, de la que se magnifica un segmento de 106 nt. La segunda fila (de arriba abajo) de texto coloreado representa la secuencia del genoma de referencia. Explica en 19A qué representa la primera fila de texto coloreado y en qué fundamentas tu hipótesis. La mayor parte de la pantalla está ocupada por lecturas alineadas, en la que aparecen cinco caracteres (A, C, T, G y *) negros o rojos, sombreados en verde, azul, rosa, naranja o gris.

**Figura 21**

Interpreta la Figura 21, explicando a qué corresponden los sombreados verde, azul, rosa y naranja (en 19B), los caracteres negros (19C) y rojos (19D) y el sombreado gris (19E). Explica en 19F si el segmento de 106 pb que se magnifica en la pantalla ha sido leído con una cobertura mayor de 20x. Explica en 19G si la pantalla presenta algún indicio de que existan otras regiones del genoma a estudio en las que se haya alcanzado una cobertura inferior a la del mencionado segmento de 106 pb. Formula en 19H una hipótesis acerca de la causa de las zonas de la pantalla en las que parecen faltar lecturas, y en 19I, otra sobre la singularidad de las columnas 4, 5 y 6 (numerando de izquierda a derecha) con respecto a las restantes de sombreado gris.

En una secuenciación masiva de una muestra de ADN humano se obtuvieron 840.356.765 lecturas de una longitud media de 120 nt. Considerando que la longitud del genoma humano es $3,3 \cdot 10^9$ pb, indica en 19J la cobertura alcanzada y en 19K la probabilidad de no haber obtenido lecturas de alguna posición del genoma.

20.- Busca en YouTube, DNATUBE y otros sitios web un vídeo de más de un minuto y menos de cinco, en el que se presente mediante animaciones algún aspecto del temario de la asignatura de Ingeniería Genética, que no haya sido proyectado en clase y que consideres destacable. Excluye los vídeos en los que solo aparezca un experto hablando sobre un tema dado. Escribe en 20A tres de las razones por las que consideras destacable el vídeo elegido y en 20B la dirección de la página que lo contiene, en el formato <http://...> Se proyectarán en clase los cinco mejores vídeos en opinión del profesor.

Área de Genética

Departamento de Biología Aplicada

Universidad Miguel Hernández

Grado en Biotecnología

Curso 2013-14

Hoja de respuestas a la serie 1 de problemas

Remitir a jlmicol@umh.es indicando *IG1* en el campo del asunto del mensaje. Debe remitirse también otro mensaje que contenga un archivo adjunto con al menos una diapositiva por problema, indicando *IG1D* en el asunto. El nombre de los archivos será *Apellido1 Apellido2 Nombre* (del remitente). La hoja de respuestas debe rellenarse empleando un visor de archivos pdf (como Acrobat Reader) y grabarse en formato *pdf*. Solo se admitirán archivos *pdf* para las hojas de respuestas rellenas y *ppt* o *pptx* para las diapositivas.

Apellidos:		Nombre:	
1A			
1B			
1C			
1D	1E	1F	
1G		1H	
		2B	
		2C	2D
2F			
2G			

Área de Genética

Departamento de Biología Aplicada

Universidad Miguel Hernández

Grado en Biotecnología

Curso 2013-14

Hojas de respuestas a la serie 2 de problemas

Remitir a jlmicol@umh.es indicando IG2 en el campo del asunto del mensaje. Debe remitirse también otro mensaje que contenga un archivo adjunto con al menos una diapositiva por problema, indicando IG2D en el asunto. El nombre de los archivos será *Apellido1 Apellido2 Nombre* (del remitente). La hoja de respuestas debe rellenarse empleando un visor de archivos pdf (como Acrobat Reader) y grabarse en formato *pdf*. Solo se admitirán archivos *pdf* para las hojas de respuestas rellenas y *ppt* o *pptx* para las diapositivas.

Apellidos:		Nombre:	
3		Tabla 2	
Muestra Enzima Naturaleza de los productos de reacción			
1	S		
2	S		
3	S		
4	S		
5	S		
6	S		
7	S		
1	B		
2	B		
3	B		
4	B		
5	B		
6	B		
7	B		
1	D		
2	D		
3	D		
4	D		
5	D		
6	D		
7	D		
1	RA		
2	RA		
3	RA		
4	RA		
5	RA		
6	RA		
7	RA		
1	RH		
2	RH		
3	RH		
4	RH		
5	RH		
6	RH		
7	RH		

4A	4B
4C	4D
4E	4F
4G	4H

Área de Genética

Departamento de Biología Aplicada

Universidad Miguel Hernández

Grado en Biotecnología

Curso 2013-14

Hoja de respuestas a la serie 3 de problemas

Remitir a jlmicol@umh.es indicando *IG3* en el campo del asunto del mensaje. Debe remitirse también otro mensaje que contenga un archivo adjunto con al menos una diapositiva por problema, indicando *IG3D* en el asunto. El nombre de los archivos será *Apellido1 Apellido2 Nombre* (del remitente). La hoja de respuestas debe rellenarse empleando un visor de archivos pdf (como Acrobat Reader) y grabarse en formato *pdf*. Solo se admitirán archivos *pdf* para las hojas de respuestas rellenas y *ppt* o *pptx* para las diapositivas.

Apellidos:	Nombre:
5A	5B
5C	5D
5E	5F
5G	5H
5I	5J
5K	5L
6A	6B
6C	6D
6E	

Área de Genética

Departamento de Biología Aplicada

Universidad Miguel Hernández

Grado en Biotecnología

Curso 2013-14

Hoja de respuestas a la serie 4 de problemas

Remitir a jlmicol@umh.es indicando *IG4* en el campo del asunto del mensaje. Debe remitirse también otro mensaje que contenga un archivo adjunto con al menos una diapositiva por problema, indicando *IG4D* en el asunto. El nombre de los archivos será *Apellido1 Apellido2 Nombre* (del remitente). La hoja de respuestas debe rellenarse empleando un visor de archivos pdf (como Acrobat Reader) y grabarse en formato *pdf*. Solo se admitirán archivos *pdf* para las hojas de respuestas rellenas y *ppt* o *pptx* para las diapositivas.

Apellidos:		Nombre:	
7A	7B		
7C	7D		
7E	7F		
7G	7H		
7I		7J	
8A			
8B			
8C			
8D			
8E			
8F			
8G			

Área de Genética

Departamento de Biología Aplicada

Universidad Miguel Hernández

Grado en Biotecnología

Curso 2013-14

Hoja de respuestas a la serie 5 de problemas

Remitir a jlmicol@umh.es indicando *IG5* en el campo del asunto del mensaje. Debe remitirse también otro mensaje que contenga un archivo adjunto con al menos una diapositiva por problema, indicando *IG5D* en el asunto. El nombre de los archivos será *Apellido1 Apellido2 Nombre* (del remitente). La hoja de respuestas debe rellenarse empleando un visor de archivos pdf (como Acrobat Reader XI) y grabarse en formato *pdf*. Solo se admitirán archivos *pdf* para las hojas de respuestas rellenas y *ppt* o *pptx* para las diapositivas.

Apellidos:		Nombre:	
9A		9B	
9C	9F		
9D	9G		
9E	9H		
10A			
10B			
10C			

Área de Genética

Departamento de Biología Aplicada

Universidad Miguel Hernández

Grado en Biotecnología

Curso 2013-14

Hoja de respuestas a la serie 6 de problemas

Remitir a jlmicol@umh.es indicando *IG6* en el campo del asunto del mensaje. Debe remitirse también otro mensaje que contenga un archivo adjunto con al menos una diapositiva por problema, indicando *IG6D* en el asunto. El nombre de los archivos será *Apellido1 Apellido2 Nombre* (del remitente). La hoja de respuestas debe rellenarse empleando un visor de archivos pdf (como Acrobat Reader XI) y grabarse en formato *pdf*. Solo se admitirán archivos *pdf* para las hojas de respuestas rellenas y *ppt* o *pptx* para las diapositivas.

Apellidos:		Nombre:	
11A			
11B			
11C	11D	11E	
11F			
12A		12B	
12C	12D	12E	12F
12G			
12H	12I	12J	12K
12L		12M	
12N			

Área de Genética

Departamento de Biología Aplicada

Universidad Miguel Hernández

Grado en Biotecnología

Curso 2013-14

Hoja de respuestas a la serie 7 de problemas

Remitir a jlmicol@umh.es indicando *IG7* en el campo del asunto del mensaje. Debe remitirse también otro mensaje que contenga un archivo adjunto con al menos una diapositiva por problema, indicando *IG7D* en el asunto. El nombre de los archivos será *Apellido1 Apellido2 Nombre* (del remitente). La hoja de respuestas debe rellenarse empleando un visor de archivos pdf (como Acrobat Reader XI) y grabarse en formato *pdf*. Solo se admitirán archivos *pdf* para las hojas de respuestas rellenas y *ppt* o *pptx* para las diapositivas.

Apellidos:	Nombre:
13A	
13B	
13C	
13D	13E
14A	
14B	
14C	
14D	

Área de Genética

Departamento de Biología Aplicada

Universidad Miguel Hernández

Grado en Biotecnología

Curso 2013-14

Hoja de respuestas a la serie 8 de problemas

Remitir a jlmicol@umh.es indicando *IG8* en el campo del asunto del mensaje. Debe remitirse también otro mensaje que contenga un archivo adjunto con al menos una diapositiva por problema, indicando *IG8D* en el asunto. El nombre de los archivos será *Apellido1 Apellido2 Nombre* (del remitente). La hoja de respuestas debe rellenarse empleando un visor de archivos pdf (como Acrobat Reader XI) y grabarse en formato *pdf*. Solo se admitirán archivos *pdf* para las hojas de respuestas rellenas y *ppt* o *pptx* para las diapositivas.

Apellidos:		Nombre:			
15A	15B				
15C					
15D					
15E					
15F					
15G					
15H					
15I	15J	16A	16B	16C	
16D					16E
16F					
16G					
16H					
16I					
16J					

Área de Genética

Departamento de Biología Aplicada

Universidad Miguel Hernández

Grado en Biotecnología

Curso 2013-14

Hojas de respuestas a las series 9 y 10 de problemas

Remitir a jlmicol@umh.es indicando *IG9* en el campo del asunto del mensaje. Debe remitirse también otro mensaje que contenga un archivo adjunto con al menos una diapositiva por problema, indicando *IG9D* en el asunto. El nombre de los archivos será *Apellido1 Apellido2 Nombre* (del remitente). La hoja de respuestas debe rellenarse empleando un visor de archivos pdf (como Acrobat Reader XI) y grabarse en formato *pdf*. Solo se admitirán archivos *pdf* para las hojas de respuestas rellenas y *ppt* o *pptx* para las diapositivas.

Apellidos:		Nombre:	
17A	17B	17C	
17D			
17E			17F
17G			
17H			
17I			
17J			
18A			
18B			
18C			
18D			
18F			

Apellidos:	Nombre:
18Ea	18Eb

Apellidos:	Nombre:
19A	
19B	
19C	
19D	
19E	
19F	
19G	
19H	
19I	
19J	19K
20A	
20B	

Área de Genética

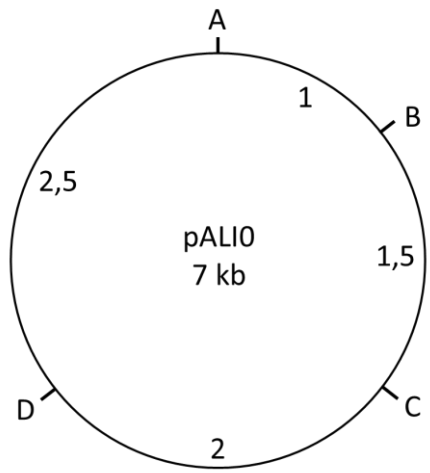
Departamento de Biología Aplicada

Universidad Miguel Hernández

Grado en Biotecnología

Curso 2013-14

Hoja de respuestas a la serie 1 de problemas

Apellidos:		Nombre:	
1A 5' -AUGUGGAUGUGGAUGUGGUGA-3'			
1B 5' -TCACCACATCCACATCCACAT-3'			
1C 5' -ATGTGGATGTGGATGTGGTGA-3'			
1D C	1E B	1F H ₂ N-M-COOH	
1G H ₂ N-M-COOH		1H H ₂ N-M-COOH	
2A 		2B Las bandas de las calles A, B, C, D y B+D del gel son más gruesas que las demás porque contienen todo el ADN de cada una de las digestiones, ya que al producirse solo un corte en el plásmido se obtiene solo un fragmento de restricción. Las bandas de las calles restantes contienen menos ADN, ya que cada una de ellas solo contiene la parte del plásmido que corresponde a uno de los dos fragmentos de restricción obtenidos.	
2C Arriba		2D Arriba	2E Abajo
2F La banda mayoritaria (la de 6 kb) corresponde a la forma circular, covalentemente cerrada y superenrollada del plásmido, y la de 9 kb, a la forma circular mellada (y por tanto, sin superenrollamiento).			
2G La digestión incompleta rendiría cinco bandas: dos con moléculas no digeridas, de pesos moleculares aparentes de 6 kb (circular mellada) y 9 kb (superenrollada); dos completamente digeridas, de 2,5 y 4,5 kb; y una de 7 kb, que contendría moléculas lineales, con un solo corte fruto de la restricción con solo una de las dos enzimas (solo con <i>AatI</i> o solo con <i>CspI</i>).			

Área de Genética

Departamento de Biología Aplicada

Universidad Miguel Hernández

Grado en Biotecnología

Curso 2013-14

Hojas de respuestas a la serie 2 de problemas

Apellidos:		Nombre:
3		Tabla 2
Muestra	Enzima	Naturaleza de los productos de reacción
1	S	Oligonucleótidos y nucleótidos
2	S	Oligonucleótidos y nucleótidos
3	S	ADN bicatenario con extremos romos, oligonucleótidos y nucleótidos
4	S	ADN bicatenario con extremos romos, oligonucleótidos y nucleótidos
5	S	El sustrato no se modifica
6	S	El sustrato no se modifica
7	S	Oligorribonucleótidos y ribonucleótidos
1	B	El sustrato no se modifica
2	B	El sustrato no se modifica
3	B	ADN bicatenario con extremos 5' sobresalientes y nucleótidos
4	B	El sustrato no se modifica
5	B	ADN bicatenario con extremos 5' sobresalientes y nucleótidos
6	B	El sustrato no se modifica
7	B	El sustrato no se modifica
1	D	Oligonucleótidos y nucleótidos
2	D	Oligonucleótidos y nucleótidos
3	D	Oligonucleótidos y nucleótidos
4	D	Oligonucleótidos y nucleótidos
5	D	Oligonucleótidos y nucleótidos
6	D	Oligonucleótidos y nucleótidos
7	D	El sustrato no se modifica
1	RA	El sustrato no se modifica
2	RA	El sustrato no se modifica
3	RA	El sustrato no se modifica
4	RA	El sustrato no se modifica
5	RA	El sustrato no se modifica
6	RA	El sustrato no se modifica
7	RA	Oligorribonucleótidos y ribonucleótidos
1	RH	El sustrato no se modifica
2	RH	El sustrato no se modifica
3	RH	El sustrato no se modifica
4	RH	El sustrato no se modifica
5	RH	El sustrato no se modifica
6	RH	El sustrato no se modifica
7	RH	El sustrato no se modifica

4A Con dGTP y el fragmento Klenow de la ADN polimerasa I de <i>Escherichia coli</i> , y a continuación con la ligasa de T4 o la de <i>Escherichia coli</i>	4B Con dATP y una desoxinucleotidil transferasa terminal
4C Con la endonucleasa de restricción <i>MspI</i> , cuya diana es CCGG	4D Con la endonucleasa de restricción <i>XmaI</i> , cuya diana es CCCGGG
4E Con la ligasa de T4	4F Con la ligasa de <i>Escherichia coli</i>
4G Con la ligasa de T4	4H Con la ligasa de <i>Escherichia coli</i> o la de T4

Área de Genética

Departamento de Biología Aplicada

Universidad Miguel Hernández

Grado en Biotecnología

Curso 2013-14

Hoja de respuestas a la serie 3 de problemas

Apellidos:		Nombre:	
5A El gen <i>HIS3</i> de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> codifica la imidazolglicerol-fosfato deshidratasa, que participa en la ruta de síntesis de la histidina.		5B Las mutaciones <i>his3⁻</i> causan auxotrofía a la histidina. Los vectores portadores del gen <i>HIS3</i> se utilizan con hospedadores <i>his3⁻</i> . La selección se realiza en medio sin histidina.	
5C El gen <i>TRP1</i> de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> codifica la fosforribosilantranilato isomerasa, que participa en la ruta de síntesis del triptófano.		5D Las mutaciones <i>trp1⁻</i> causan auxotrofía al triptófano. Los vectores portadores del gen <i>TRP1</i> se utilizan con hospedadores <i>trp1⁻</i> . La selección se realiza en medio de cultivo sin triptófano.	
5E El gen <i>URA3</i> de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> codifica la orotidina-5'-fosfato descarboxilasa, que participa en la ruta de síntesis <i>de novo</i> de las pirimidinas.		5F Las mutaciones <i>ura3⁻</i> causan auxotrofía a la uridina o el uracilo. Los vectores portadores del gen <i>URA3</i> se utilizan con hospedadores <i>ura3⁻</i> . La selección se realiza en medio de cultivo sin uridina o uracilo.	
5G <i>Saccharomyces cerevisiae</i>		5H <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	
5I <i>Saccharomyces cerevisiae</i>		5J <i>ARS1</i> es un origen de replicación de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> .	
5K <i>CEN4</i> es un centrómero de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> , que controla la segregación del YAC y su número de copias.		5L <i>TEL</i> es un telómero de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> , que contribuye al mantenimiento estable del YAC en las células hospedadoras.	
6A <i>Bam</i> HI corta sus dos dianas adyacentes a las dos secuencias teloméricas que flanquean al gen <i>HIS3</i> , que por lo tanto se pierde. Se obtiene así un fragmento lineal con secuencias teloméricas en cada extremo, que será estable en las células hospedadoras.		6B La digestión con <i>Hind</i> III generará dos fragmentos lineales que no pueden estabilizarse en las células hospedadoras: una, con <i>HIS3</i> y <i>TEL</i> , pero sin <i>CEN4</i> ; otra, con <i>CEN4</i> pero sin <i>TEL</i> .	
6C La digestión con <i>Sna</i> BI generará un fragmento lineal con extremos romos, que no servirá de vector ya que no tiene las secuencias <i>TEL</i> ubicadas en sus extremos.		6D Con <i>Bam</i> HI y <i>Sna</i> BI.	
6E Las células hospedadoras deben ser <i>ura3⁻ trp1⁻ ade2-1</i> . El medio de cultivo debe contener adenina, pero no triptófano ni uracilo. La clonación de un inserto con <i>Sna</i> BI impide la expresión de <i>SUP4 ochre</i> , que codifica un ARNt ^{Tyr} que suprime los efectos de la mutación <i>ade2-1</i> . <i>ADE2</i> codifica la fosforribosil amino-imidazol carboxilasa, que participa en la síntesis de adenina. En las células <i>ade2-1</i> se acumula fosforribosilamino-imidazol, que al polimerizar rinde un pigmento rojo. Las células que hayan incorporado un YAC con inserto serán rojas, y las que carezcan de inserto, blancas.			

Área de Genética

Departamento de Biología Aplicada

Universidad Miguel Hernández

Grado en Biotecnología

Curso 2013-14

Hoja de respuestas a la serie 4 de problemas

Apellidos:		Nombre:
7A <i>PvuI</i> ; interrumpe el gen <i>amp^R</i> .	7B La selección se realizará con células hospedadoras <i>Escherichia coli</i> Amp ^S Tet ^S , mediante plaqueo de réplica, en dos medios de cultivo, el primero suplementado con tetraciclina, y el segundo, con ampicilina. Las colonias de interés serán las que hayan crecido en el primer medio (Tet ^R) pero no en el segundo (Amp ^S).	
7C <i>Sall</i> ; interrumpe el gen <i>tet^R</i> .	7D La selección se realizará con células hospedadoras <i>Escherichia coli</i> Amp ^S Tet ^S , mediante plaqueo de réplica, en dos medios de cultivo, el primero suplementado con ampicilina, y el segundo, con tetraciclina. Las colonias de interés serán las que hayan crecido en el primer medio (Amp ^R) pero no en el segundo (Tet ^S).	
7E <i>HindIII</i> ; no interrumpe ningún gen.	7F La selección se realizará con células hospedadoras <i>Escherichia coli</i> Amp ^S Tet ^S , pero solo permitirá distinguir las células que hayan incorporado alguna molécula exógena de las demás. No será posible discriminar las células que hayan incorporado un vector con inserto o un vector sin inserto.	
7G <i>EcoRI</i> y <i>HindIII</i> ; interrumpen el sitio de clonación múltiple y <i>lacZα</i> .	7H La selección se realizará con células hospedadoras <i>Escherichia coli</i> Amp ^S <i>lacZΔM15</i> . El medio de cultivo se suplementará con ampicilina, IPTG y X-Gal. Se llevará a cabo una identificación cromogénica de clones recombinantes, seleccionando las colonias blancas, en las que la interrupción del gen <i>lacZα</i> por el inserto impedirá que se produzca el péptido α de la β-galactosidasa. La complementación α solo se dará en las células que hayan incorporado un vector sin inserto, que rendirán colonias azules como consecuencia de la degradación del X-Gal por la β-galactosidasa.	
7I <i>HincII</i> o <i>SmaI</i> , que generan extremos romos, compatibles con los de <i>StuI</i> ; interrumpen el sitio de clonación múltiple y el gen <i>lacZα</i> .		7J Se llevará a cabo una identificación cromogénica de clones recombinantes, idéntica a la descrita en 7H.
8A 94°C, 30 s; 35 × (94°C, 30 s; 51,5°C, 10 s; 72°C, 5 min); 72°C, 10 min; 4°C, ∞		
8B 94°C, 30 s; 35 × (94°C, 30 s; 51,5°C, 10 s; 72°C, 5 min); 72°C, 10 min; 4°C, ∞		
8C 94°C, 30 s; 35 × (94°C, 30 s; 51,5°C, 10 s; 72°C, 5 min); 72°C, 10 min; 4°C, ∞		
8D Mezclar vector y producto de PCR en presencia de una ligasa (de T4 o <i>Escherichia coli</i>).		
8E Digerir el vector y el producto de PCR con <i>EcoRI</i> y ligarlos con la ligasa de T4 o la de <i>Escherichia coli</i> .		
8F Digerir el vector con <i>SmaI</i> o con <i>HincII</i> y ligarlo con el producto de PCR con la ligasa de T4.		
8G Las secuencias de los extremos de pGEM-T Easy antes y después de su ligación al inserto (se destaca en rojo) son las siguientes:		
...CGATT-OH-3' 5'-P-ATCA... ...GCTA-P-5' 3'-HO-TTAGT... ...CGATTACGATC.....GATGGCAATCA... ...GCTAATGCTAG.....CTACCGTTAGT... La ligación causa la aparición de dianas de <i>BsaBI</i> (se subrayan), que se digirán tal como se indica (↓). Se obtendrán dos fragmentos de restricción, de 2.498 y 3.019 pb. Debe tenerse en cuenta que los productos de las PCR catalizadas por la polimerasa <i>Taq</i> presentan una A sobresaliente en sus extremos 3'.		

Área de Genética

Departamento de Biología Aplicada

Universidad Miguel Hernández

Grado en Biotecnología

Curso 2013-14

Hoja de respuestas a la serie 5 de problemas

Apellidos:		Nombre:
9A No forman parte de un sistema de restricción-modificación bacteriano. Son productos de un intrón de un gen del cloroplasto de una clorofícea (<i>Chlamydomonas eugametos</i>) y de la mitocondria de una levadura (<i>Saccharomyces cerevisiae</i>). Su diana es muy larga, no palindrómica y muy infrecuente en el ADN eucariótico.		9B $3,3 \cdot 10^9 \times 1/4^{34}$ $= 1,12 \cdot 10^{-11}$
9C El gen <i>Bsd</i> codifica la blastidina S desaminasa de <i>Aspergillus terreus</i> , que causa resistencia a blastidina S. Las células hospedadoras deben ser Bsd ^S y el medio debe contener blastidina S. Se seleccionarán transformantes Bsd ^R .	9F El gen <i>TK</i> codifica la timidina quinasa del virus del herpes simple. Esta enzima fosforila el ganciclovir (un análogo de la desoxiguanosina) rindiendo un nucleótido que compite con el dGTP en su incorporación al ADN en síntesis. Las construcciones que se insertan en posiciones aleatorias del genoma de una célula hospedadora retienen el gen <i>TK</i> viral, causando muerte celular en presencia de ganciclovir.	
9D Los genes <i>Neo</i> codifican aminoglicósido transferasas que causan resistencia a neomicina y kanamicina en bacterias. Las células hospedadoras deben ser Neo ^S y el medio debe contener neomicina o kanamicina. Se seleccionarán transformantes Neo ^R .	9G El gen <i>lacZ</i> de <i>Escherichia coli</i> codifica la β-galactosidasa, que rinde un producto azul a partir del sustrato incoloro X-Gal. La expresión del gen <i>lacZ</i> es inducida por IPTG. Las células hospedadoras deben ser lacZ ⁻ (es lo habitual, dado que son eucarióticas). Se seleccionarán colonias azules de transfectantes en presencia de IPTG y X-Gal. Mediante recombinación homóloga solo se inserta en el genoma de las células hospedadoras la parte de la construcción que contiene <i>lacZ</i> , <i>Neo</i> y las regiones de homología.	
9E El gen <i>Amp</i> codifica una beta-lactamasa que causa resistencia a ampicilina. Las células hospedadoras deben ser Amp ^S y el medio debe contener ampicilina. Se seleccionarán transformantes Amp ^R .	9H Los genes <i>Neo</i> codifican aminoglicósido transferasas que causan resistencia a geneticina en células eucarióticas. Las células hospedadoras deben ser Neo ^S y el medio debe contener geneticina. Se seleccionarán transfectantes Neo ^R . Mediante recombinación homóloga solo se inserta en el genoma de las células hospedadoras la parte de la construcción que contiene <i>lacZ</i> , <i>Neo</i> y las regiones de homología.	
10A El fragmento de restricción obtenido con <i>EcoRV</i> del alelo silvestre de <i>Fat2</i> que hibrida con la sonda tiene una longitud de 5,7 kb. El fragmento de restricción del alelo mutante <i>Fat2</i> ^{EGFP} que hibrida con la sonda es de 7,1 kb. Uno de los ratones analizados es homocigótico para el alelo silvestre (+/+) por lo que rinde una sola banda, de 5,7 kb; el otro (+/-) es transgénico y heterocigótico para el alelo silvestre y <i>Fat2</i> ^{EGFP} , por lo que rinde dos bandas, de 5,7 y 7,1 kb, respectivamente.		
10B El fragmento de restricción obtenido con <i>Asp718I</i> del alelo silvestre de <i>Fat3</i> que hibrida con la sonda tiene una longitud de 22 kb. El fragmento de restricción del alelo mutante <i>Fat3</i> ^{nlacZ} que hibrida con la sonda es de 13,5 kb. Uno de los ratones analizados es homocigótico para el alelo silvestre (+/+) por lo que rinde una sola banda, de 22 kb; el otro (+/-) es transgénico y heterocigótico para el alelo silvestre y <i>Fat3</i> ^{nlacZ} , por lo que rinde dos bandas, de 22 y 13,5 kb, respectivamente.		
10C El fragmento de restricción obtenido con <i>BamHI</i> del alelo silvestre de <i>Fat4</i> que hibrida con la sonda tiene una longitud de 7 kb. El fragmento de restricción del alelo mutante <i>Fat4</i> ^{EGFP} que hibrida con la sonda es de 5,1 kb. Uno de los ratones analizados es homocigótico para el alelo silvestre (+/+) por lo que rinde una sola banda, de 7 kb; el otro (+/-) es transgénico y heterocigótico para el alelo silvestre y <i>Fat4</i> ^{EGFP} , por lo que rinde dos bandas, de 7 y 5,1 kb, respectivamente.		

Área de Genética

Departamento de Biología Aplicada

Universidad Miguel Hernández

Grado en Biotecnología

Curso 2013-14

Hoja de respuestas a la serie 6 de problemas

Apellidos:		Nombre:	
11A H ₂ N-...F(M,T)W(V,I)(V,I)GC...-COOH → 5'-TT(T,C)-A(T,C)N-TGG-(A,G)TN-(A,G)TN-GGN-TG-3'			
11B H ₂ N-...MPQ(V,I)M(C,T)Y...-COOH → 5'-(G,A)TA-N(C,G)(T,A)-CAT-NA(C,T)-(C,T)TG-NGG-CAT-3'			
11C 153 pb	11D Amplificación de ADN genómico	11E Amplificación de ADNc	
11F El gen de la familia del TGF-β que se estudia en los animales B y E presenta un intrón del que carecen A, C, D y F. En consecuencia, no se obtiene un producto de PCR empleando como molde ADN genómico de B o E porque la secuencia del cebador corresponde en parte al extremo 3' de un exón y en parte al extremo 5' del siguiente, lo que impide su hibridación efectiva con el molde.			
12A Codominante ligado al sexo		12B Recesivo ligado al sexo	
12C No	12D No	12E No	12F Los hijos varones
12G Puede corresponder a ambos métodos. La imagen podría representar fragmentos de restricción sometidos a electroforesis, transferidos a una membrana e hibridados con una sonda; también, productos de PCR visualizados en un gel de agarosa teñido con bromuro de etidio.			
12H Hh	12I Hh	12J H7/h9	12K H9/h12
12L II-1 (h9/H9) y II-3 (H7/h12)		12M Padecerá la enfermedad; su genotipo es h9/h12	
12N Todos los individuos enfermos son portadores del alelo A del polimorfismo detectado empleando como sonda ADNc del gen de la cristalina β. Ninguno de los individuos sanos es portador del alelo A del polimorfismo. Puede afirmarse, en consecuencia, que la Figura 14 sí apoya la hipótesis de que el gen de la cristalina β causa la enfermedad. No obstante, estos resultados no demuestran que la hipótesis sea cierta.			

Área de Genética

Departamento de Biología Aplicada

Universidad Miguel Hernández

Grado en Biotecnología

Curso 2013-14

Hoja de respuestas a la serie 7 de problemas

Apellidos:	Nombre:
13A Sí, es compatible con el modo de herencia autosómico dominante, en cuyo caso I-2 sería heterocigótico para el alelo causante de la enfermedad, que heredarían cinco de sus doce hijos. Los hijos enfermos también serían heterocigóticos.	
13B No es compatible con el modo de herencia ligado al sexo dominante, en cuyo caso solo manifestarían la enfermedad las hijas de I-2, que heredan el cromosoma X de su padre. Sin embargo, la enfermedad se manifiesta en los hijos de ambos sexos de I-2.	
13C Sí, es compatible con el modo de herencia ligado al sexo recesivo, en cuyo caso I-1 sería heterocigótica, por lo que sus hijos podrían heredar o no el alelo recesivo de su madre (siempre lo heredarían del padre), y sus hijas ser heterocigóticas u homocigóticas para el alelo recesivo. Lo anterior explica la manifestación de la enfermedad en los hijos de ambos sexos de I-1 y I-2.	
13D El RFLP de <i>Bam</i> HI parece estar ligado al gen causante de la enfermedad ya que el alelo de 5 kb (5) del RFLP cosegrega con la enfermedad: todos los individuos enfermos (excepto II-3) son 55, y todos los sanos (excepto II-10), 35. Es improbable que el RFLP de <i>Eco</i> RI esté ligado al gen causante de la enfermedad, ya que de ser así serían recombinantes II-1, II-2, II-6, II-7 y II-10.	13E Sí, son recombinantes II-3 y II-10
14A Las temperaturas de fusión (T_m) de los oligonucleótidos UMHIG1 y UMHIG2 son muy distintas: 55,88 y 62,03°C, respectivamente. Sin embargo, las de UMHIG3 y UMHIG1 son iguales. En consecuencia, la pareja de cebadores UMHIG1 + UMHIG2 no es adecuada, ya que sus T_m difieren en más de 5°C. Sin embargo, UMHIG1 y UMHIG3 permiten una amplificación óptima a unos 51°C.	
14B Los alelos del gen <i>SHY</i> de la familia a estudio difieren en el número de repeticiones del trinucleótido CGG: los productos de PCR de 179, 173, 167, 158, 107 y 98 pb revelan la existencia de 43, 41, 39, 36, 19 y 16 repeticiones de CGG, respectivamente. Los cuatro primeros alelos de este VNTR contienen muchas más repeticiones del trinucleótido que los otros dos.	
14C Los alelos del VNTR con (CGG) ₄₃ , (CGG) ₄₁ , (CGG) ₃₉ y (CGG) ₃₆ impiden la correcta expresión del gen <i>SHY</i> , causando la enfermedad. El incremento en el número de repeticiones del trinucleótido probablemente dificulta el procesamiento de los transcritos y/o la traducción del ARNm de <i>SHY</i> , o genera una proteína con un número de aminoácidos superior al normal.	
14D Durante la replicación del ADN se produce un desapareamiento del extremo 3' de la cadena naciente, al detener su avance transitoriamente la polimerasa del ADN. Cuando la polimerasa reanuda su actividad, puede producirse un apareamiento erróneo de la cadena en síntesis y la que le sirve de molde en las regiones con repeticiones, que a su vez causa un incremento en la longitud del VNTR. Esto es lo que puede estar ocurriendo en la línea germinal de I-2.	

Área de Genética

Departamento de Biología Aplicada

Universidad Miguel Hernández

Grado en Biotecnología

Curso 2013-14

Hoja de respuestas a la serie 8 de problemas

Apellidos:		Nombre:		
15A 10 ⁻²⁰	15B En abscisas se representa el tamaño de las moléculas (en nt), que es creciente de izquierda a derecha.			
15C En ordenadas se representa la intensidad de la fluorescencia (en unidades arbitrarias) emitida por los productos de PCR. Cuanto mayor es la cantidad de ADN en una banda, mayor es su fluorescencia.				
15D Cada pareja de cebadores incluye un oligonucleótido marcado con un fluoróforo, por lo que los productos de la amplificación de un microsatélite dado emiten fluorescencia con la misma longitud de onda. Cada uno de los colores de los picos se corresponde con un fluoróforo. Dos picos cercanos en el electroferograma y del mismo color representan a dos alelos del mismo marcador.				
15E D16S539				
15F Amelogenin, D5S818, D13S317, D8S1179, D21S11 y TPOX				
15G La amelogenina es una proteína que contribuye al desarrollo del esmalte dental.				
15H El gen de la amelogenina se encuentra en la región pseudoautosómica de los cromosomas X e Y. La amplificación por PCR de uno de sus intrones rinde a partir del cromosoma Y un producto más largo que el del cromosoma X, y permite determinar el sexo de la persona de la que se ha obtenido ADN, ya que si es hombre presentará dos productos de PCR, y solo uno si es mujer.				
15I Hombre	15J Mujer	16A 43,49°C	16B 36,47°C	16C Inferior
16D No. Cada una de ellas debe llevarse a cabo a la temperatura óptima para la hibridación entre cada oligonucleótido y su diana, que difieren en 7,02°C.				16E II-2
16F Realizar una amplificación mediante PCR del gen de la CFTR y resolver los productos en un gel de poliacrilamida. Se obtendrán así dos bandas si II-2 es un falso positivo, o solo una si no lo es.				
16G Cada círculo representa la obtención de un producto de PCR a partir de una pareja de cebadores específica del alelo A (rojo) o B (verde).				
16H La eficiencia reproductiva de los machos AA es mucho mayor, ya que 40 de las 48 larvas estudiadas son portadoras del alelo A.				
16I Se han utilizado tres oligonucleótidos, uno de ellos común a las dos amplificaciones. Los otros dos difieren en un nucleótido y son específicos de alelo. Cada uno de estos dos últimos se ha utilizado en solo una de las dos amplificaciones.				
16J La parte superior de la figura representa el gen <i>CoxI</i> y los productos de su amplificación por PCR con los cebadores ScallopR2, CisCOIF2 y PmaCOIf1. Los dos últimos son específicos de especie, y el primero hibrida con el gen <i>CoxI</i> de las dos especies de vieiras. La parte inferior representa un gel de agarosa teñido con bromuro de etidio, en el que cada calle se ha cargado con los productos de amplificaciones realizadas con los tres cebadores y ADN de una vieira como molde. Las bandas de 459 pb revelan que el ADN amplificado era de vieira islandesa en 8 de los 80 casos estudiados, que se encontraba en veda cerrada, lo que justifica la multa impuesta al pescador.				

Área de Genética

Departamento de Biología Aplicada

Universidad Miguel Hernández

Grado en Biotecnología

Curso 2013-14

Hojas de respuestas a las series 9 y 10 de problemas

Apellidos:		Nombre:	
17A 180 kb		17B 67 exones	
		17C 13,5 y 10,3 kb	
17D Expansión de un trinucleótido.			
17E Incremento en la longitud de un segmento de poliglutamina en la proteína.			17F AGA
17G Acc16I, AclI, AfeI, AgeI, AhiI, Aor5IHI, Ascl, AsuII, Avill, Bcul, BsePI, BshTI, BssHII, Fsel, Fspl, Hpal, MluI, NdeI, NotI, Nrul, Pacl, SnaBI, SpeI y SwaI.			
17H Alul, DpnII, HaeIII, HinfI, HpaII, Mbol, MspI, NdeII, NlaIII y Phol.			
17I Las dianas de seis de ellas tienen una longitud de 8 pb. Estas dianas deberían aparecer con una probabilidad teórica (1/4 ⁸ =1,53·10 ⁻⁵) menor que la que corresponde a las de 6 pb (1/4 ⁶ =2,44·10 ⁻⁴).			
17J Las dianas de todas ellas tienen una longitud de 4 pb. Estas dianas deberían aparecer con una probabilidad teórica de 1/4 ⁴ =3,91·10 ⁻³ , lo que explica que sean tan frecuentes.			
18A UMHIG4 debe descartarse porque puede formar autodímeros y horquillas: ACGTGTGCACAGTAGCACACACGTGTGCACA) CACACGATGACACGTGTGCA CACACGATG			
18B UMHIG5 debe descartarse porque puede formar autodímeros y horquillas: CGTGCGCGGATATCATATACGTGCGCGGATAT C ATATACTATAGCGCGCGTGC ATATA			
18C UMHIG6 debe descartarse porque puede formar autodímeros: TGTATAGCAGTAGCCGCGC CGCGCCGATGACGATATGT			
18D UMHIG7 puede aceptarse porque no formará autodímeros ni horquillas.			
18F H ₂ N-(W, Y, F)VTY(Y, F)YG-COOH y H ₂ N-PIG(V, F)APT-COOH			

[illegible]

Apellidos:	Nombre:
19A La primera fila representa la traducción a proteína de la secuencia del genoma de referencia, tal como puede comprobarse consultando el código genético.	
19B Los sombreados verde, azul, rosa y naranja destacan los nucleótidos A, T, G y C, respectivamente.	
19C Los caracteres negros indican nucleótidos en las lecturas que coinciden con el de la misma posición en la secuencia de referencia.	
19D Los caracteres rojos indican nucleótidos (o ausencia de nucleótidos) en las lecturas que difieren del de la misma posición en la secuencia de referencia. Pueden corresponder a errores de lectura, polimorfismos o mutaciones.	
19E El sombreado gris destaca diferencias entre las lecturas y la secuencia de referencia.	
19F Sí, ya que muchos de los nucleótidos de la muestra han sido leídos más de 20 veces.	
19G En la parte superior derecha de la pantalla se representa a pequeña escala un segmento del genoma a estudio en el que la cobertura parece ser más o menos 10×, seguida de otra con una cobertura mucho mayor.	
19H Las zonas aparentemente vacías de la pantalla son resultado de la forma en que se alinean las lecturas con la secuencia de referencia. No reflejan otra cosa que la distancia entre el final de una lectura y el comienzo de la siguiente que el programa visualizador ha elegido para ubicarla en la misma fila del alineamiento.	
19I Las columnas 4, 5 y 6 parecen indicar un polimorfismo del individuo cuyo genoma se ha secuenciado respecto al genoma de referencia. El individuo a estudio parece además heterocigótico para ese SNP, dado que la mitad de las lecturas contienen en esa posición una G, y la otra mitad, una T. También aparece una A, que muy probablemente es un error de lectura.	
19J $m = N \times L/G = 840.356.765 \times 120/3,3 \cdot 10^9 = 30,56$	19K $P_0 = e^{-m} = e^{-30,56} = 5,35 \cdot 10^{-14}$
20A	
20B	

Problemas

1.- Empleando el código genético de la Tabla 1, define en 1A la secuencia de un péptido, al que llamaremos PEP, de 10 aminoácidos idénticos y que solo pueda estar codificado por tres secuencias de ARNm distintas. Indica expresamente los extremos amino y carboxilo del péptido PEP en el formato H₂N-AMINOÁCIDOS-COOH, con el extremo amino a la izquierda, y el carboxilo, a la derecha.

Escribe en 1B una de las secuencias posibles de la cadena antisentido del ADN del gen *PEP*, a partir de la cual se ha transcrito el precursor de su ARNm, que codifica el péptido PEP. Escribe en 1C la secuencia de la correspondiente cadena con sentido de *PEP*. Indica expresamente en 1B y 1C cuáles son los extremos 5' y 3' de estas secuencias nucleotídicas y escríbelas ubicando su extremo 5' a la izquierda, y el 3', a la derecha (en el formato 5'-NUCLEÓTIDOS-3').

Escribe en 1D, con el mismo formato que el empleado en 1A, la secuencia de un péptido de 10 aminoácidos al que corresponda el número más alto posible de secuencias de ARNm distintas.

Parte de la secuencia del ARNm del alelo silvestre del gen *AGUA* de *Bombyx mori* es 5'-...AGUAAGUAAGUAAGUA...-3'. Su alelo mutante *agua-2* presenta una inserción de una C entre el noveno y el décimo nucleótidos de esta secuencia. Escribe en 1E y 1F las secuencias de los péptidos (en el formato H₂N-AMINOÁCIDOS-COOH) que se traducirán a partir de estos ARNm silvestre y mutante, respectivamente. Indica en 1G si la mutación ha ocurrido en el ADN o en el ARN, y en 1H si se trató de una inserción de una G o una C o si la información aportada en este enunciado no permite establecerlo.

Tabla 1.- Código genético
Segunda base

		Segunda base			
		U	C	A	G
Primera base	U	UUU F	UCU S	UAU Y	UGU C
	U	UUC F	UCC S	UAC Y	UGC C
	U	UUA L	UCA S	UAA Stop	UGA Stop
	U	UUG L	UCG S	UAG Stop	UGG W
C	C	CUU L	CCU P	CAU H	CGU R
	C	CUC L	CCC P	CAC H	CGC R
	C	CUA L	CCA P	CAA Q	CGA R
	C	CUG L	CCG P	CAG Q	CGG R
A	A	AUU I	ACU T	AAU N	AGU S
	A	AUC I	ACC T	AAC N	AGC S
	A	AUA I	ACA T	AAA K	AGA R
	A	AUG M	ACG T	AAG K	AGG R
G	G	GUU V	GCU A	GAU D	GGU G
	G	GUC V	GCC A	GAC D	GGC G
	G	GUA V	GCA A	GAA E	GGA G
	G	GUG V	GCG A	GAG E	GGG G

2.- El plásmido pIBE de *Escherichia coli* fue purificado y sometido a digestiones simples y dobles con las restrictasas *AatI* (A), *BamHI* (B), *CspI* (C) y *DraIII* (D), para llevar a cabo su cartografía de restricción. Los fragmentos de restricción fueron sometidos a electroforesis en un gel del 1,5% en agarosa teñido con bromuro de etidio con el marcador de peso molecular de la Figura 1 y se visualizaron en un documentador de geles (Figura 2). Representa en 2A un mapa (circular) de restricción de pIBE, indicando las posiciones de las dianas de las restrictasas y sus distancias en kb (con una precisión no superior a 0,5 kb). Varias bandas inferiores del marcador han migrado fuera del gel.

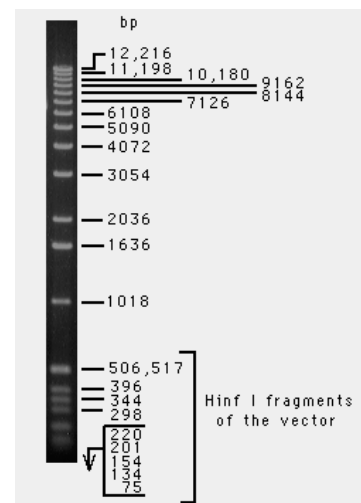
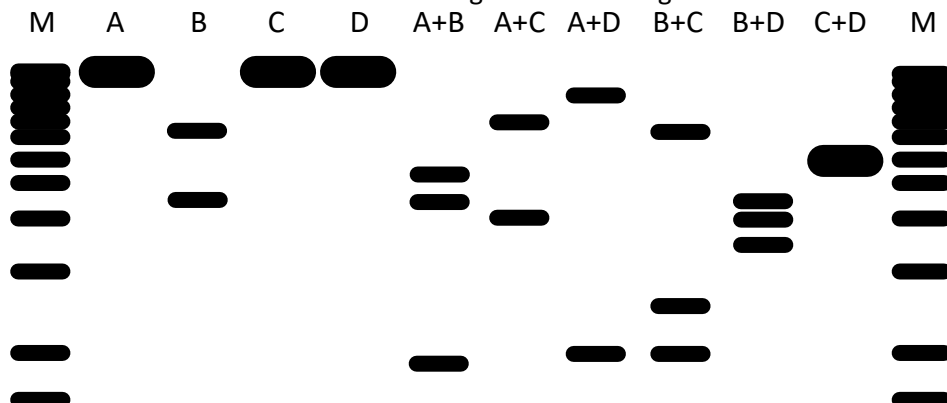


Figura 1.- Tamaño (en pb) de las moléculas del marcador de peso molecular 1 kb DNA Ladder.

Figura 2.- Visualización de los fragmentos de pIBE obtenidos tras su restricción con A, B, C y D. M: marcador de peso molecular (1 kb DNA Ladder).

3.- La miostatina es una proteína producida por el gen *MSTN* que limita el crecimiento muscular en muchos vertebrados. Los ratones a los que se les ha eliminado *MSTN* mediante ingeniería genética presentan hipertrofia muscular. Varias razas de vacas —como la belga azul, muy apreciada por la calidad de su carne— y al menos una de ovejas (Texel) deben su gran masa muscular a una mutación en *MSTN*. Las mutaciones en el gen *MSTN* humano son muy raras; los individuos portadores carecen de miostatina y están hipermusculados desde su nacimiento. Explica si cabe esperar alguna diferencia entre los efectos fenotípicos de la eliminación del gen *MSTN* mediante ingeniería genética y los de una mutación espontánea (en 3A) o inducida (en 3B) que convierta su tercer codón en uno de terminación prematura.

Realiza una búsqueda en internet e indica en 3C y 3D, si existe, la denominación de alguna raza canina o equina, respectivamente, que incluya individuos que manifiesten los efectos de la insuficiencia de función del gen que codifica la miostatina. En su caso, aporta una fotografía en 3E y 3F. Haz otro tanto respecto a la especie humana, indicando en 3G el nombre de una persona afectada, si la hubiere, y una fotografía suya, en 3H. Todos los casos que se mencionen en estas respuestas deben estar científicamente probados.

La secuencia de un segmento de 3 kb del gen *MSTN* de *Bos taurus* es 5'-...CCTATACATAGGTGATTGAGG...CCGGTGATTGATATACATAGG...-3'. Diseña dos oligonucleótidos de 21 nt que puedan usarse como cebadores para amplificar este segmento, e indica en 3I y 3J sus secuencias (en el formato 5'-NUCLEÓTIDOS-3', como en el problema 1). Escribe en 3K el programa de termociclaje que se requerirá (véanse los problemas de años anteriores), asumiendo que la polimerasa termoestable que se usará en el proceso sintetiza ADN a razón de 1 kb por minuto.

4.- Se han obtenido recientemente dos nucleótidos sintéticos distintos de los naturales y se ha demostrado su incorporación al ADN durante la replicación. Indica en 4A el nombre del investigador principal del grupo que ha publicado estos resultados, y el del centro en el que trabaja. Obtén una fotografía de este investigador y pégala en 4B. Escribe en 4C los nombres y representa en 4D las estructuras de las dos nuevas bases nitrogenadas artificiales. Lista en 4E, numerándolas, las ocho dificultades más importantes que se han tenido que superar para hacer posible la incorporación al ADN, *in vivo*, de estos nuevos nucleótidos sintéticos. Indica en 4F cuántos aminoácidos adicionales a los naturales permitiría codificar un alfabeto genético de seis letras; explica cómo has calculado este número de aminoácidos adicionales.

5.- Se realizaron varios experimentos de clonación a fin de estudiar y eventualmente manipular el gen *stardust* (*sdt*) de *Drosophila melanogaster*, empleando en cada uno de ellos un vector plasmídico diferente, que en algunos casos fue digerido previamente con una o más endonucleasas de restricción (Tabla 2).

Tabla 2

Experimento	Vector	Digestión con
1	pGEM-T Easy	<i>PvuI</i>
2	pCR 2.1-TOPO	<i>AccI</i>
3	pENTR/D-TOPO	<i>XmaI</i>
4	pUC18	<i>XbaI</i> y <i>KpnI</i>
5	pGEM-3Z	<i>HindIII</i>

Realiza una búsqueda en internet e indica en 5A los tamaños de los vectores a estudio (en pb), antes de su restricción. Representa en 5B el aspecto que tendría un gel de agarosa teñido con bromuro de etidio tras la electroforesis de 200 ng de cada uno de estos vectores, antes y después de su digestión con las restrictasas que se indican en la Tabla 2. Los vectores de los experimentos 4 y 5 fueron obtenidos en minipreparaciones; los de los experimentos 1, 2 y 3 fueron comprados a un proveedor. Para obtener esta representación, usa la primera diapositiva del archivo “Para el problema 5IG2014-15.pptx” que se ha depositado en la página web de la asignatura; copia y pega cuantas veces sea necesario las bandas que aparecen en la segunda diapositiva de este archivo. El marcador de peso molecular (M) que se incluye en la representación del gel es el de la Figura 1 (problema 2).

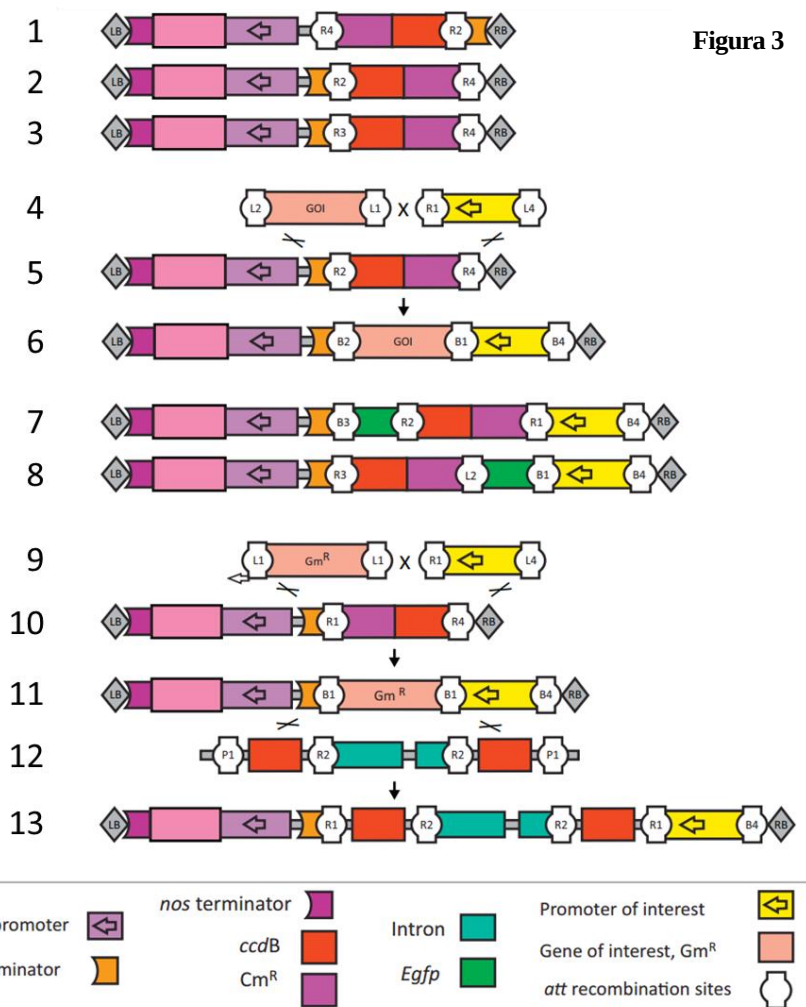
La elección de alguna de las restrictasas de la Tabla 2 fue manifiestamente errónea; indica en 5C en qué experimentos y explica tu respuesta.

6.- Una vez enmendados los errores de la Tabla 2, y tras la correcta incorporación de un inserto de 5.320 pb que contiene el gen *sdt* a los cinco vectores mencionados en el enunciado del problema 5, las construcciones obtenidas se usaron para transformar células competentes de *Escherichia coli*. Indica en 6A-6E la parte del genotipo de dichas células hospedadoras que es relevante para cada uno de estos experimentos, y en 6F-6J, los suplementos que requerirá el medio de cultivo para hacer posible la selección de los transformantes portadores de los insertos incorporados a los vectores de los experimentos 1-5 de la Tabla 2, respectivamente.

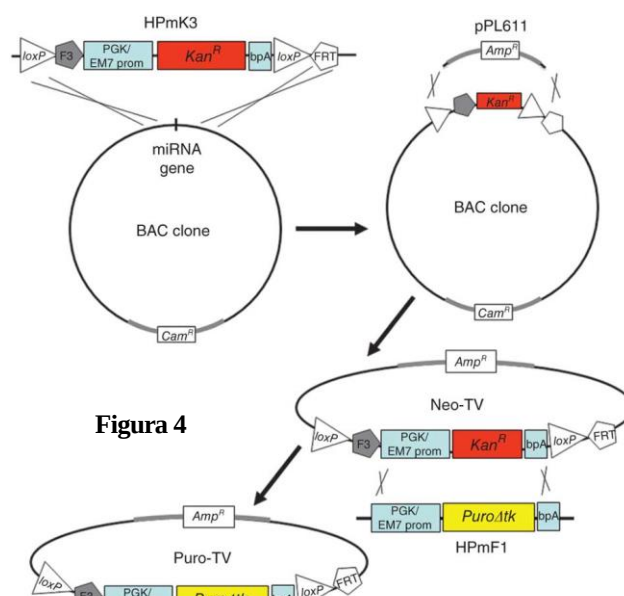
7.- La Figura 3 representa una colección de vectores diseñados con el propósito de obtener construcciones para el estudio y la manipulación de genes en varias especies de cereales. Se recoge en la figura solo una parte de la estructura de dichos vectores, que son plasmídicos y circulares. Se indica con aspas la ocurrencia de hechos de recombinación específica de sitio. Indica en 7A a qué tecnología de clonación corresponden estos vectores, e interpreta la figura explicando en 7B-7H, si la tienen, la función natural de las secuencias LB, RB, *ccdB*, *Gm^R*, *Cm^R*, *bar* y *hpt* (y si se trata de un gen, la actividad de su producto génico), respectivamente, y en 7I-7Ñ su uso habitual en Ingeniería Genética (especificando en su caso la parte relevante del genotipo de las células hospedadoras y de la composición del medio de cultivo para la selección de transformantes).

Las moléculas de las filas 1-3, 5-8, 10, 11 y 13 de la Figura 3 son segmentos de un vector plasmídico que forma parte de un sistema binario que incluye un plásmido auxiliar. Indica en 7O la denominación de los genes de estos plásmidos auxiliares y explica su función.

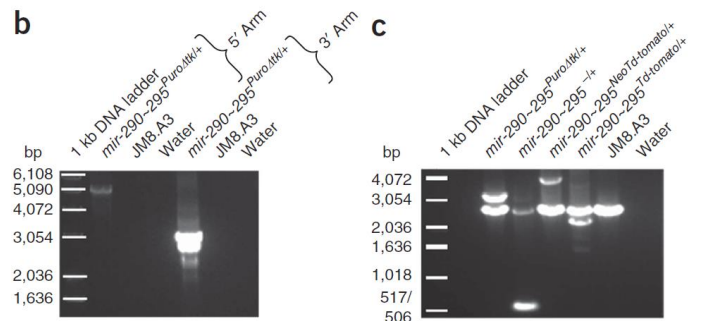
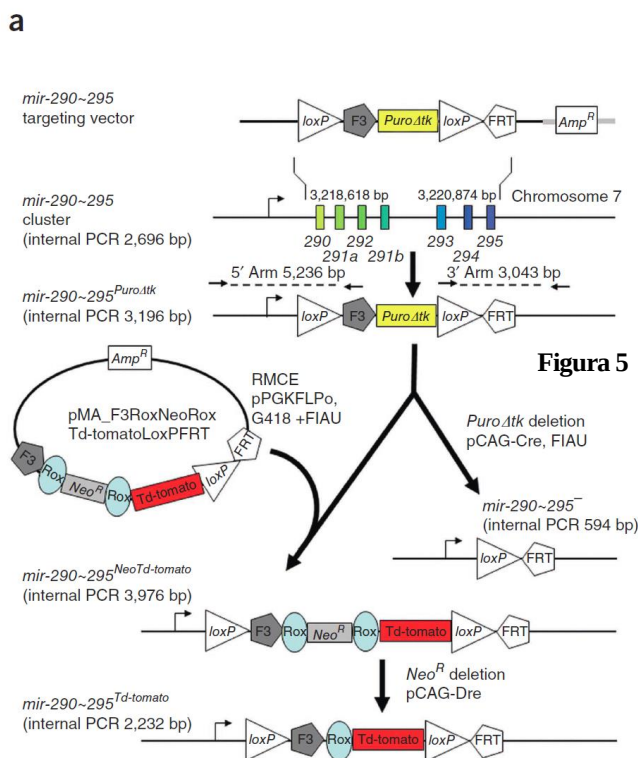
8.- Explica los procesos que se representan en las filas 4-6 (en 8A) y 9-13 (en 8B) de la Figura 3, y qué finalidad tienen las diferencias estructurales que existen entre los vectores de las filas 7 y 8 (en 8C). En la figura aparecen sitios *attR1*, *attR2*, *attR3*, *attR4*, *attL1*, *attL2*, *attL4*, *attB1*, *attB2*, *attB3*, *attB4* y *attP1*. Formula en 8D una hipótesis sobre los motivos de la existencia de tantas secuencias *att* diferentes.



9.- El vector Puro-TV fue diseñado para la eliminación dirigida del locus *mir-290~295* en ratones transgénicos. En la Figura 4 se representan las tres recombinerías sucesivas que se llevaron a cabo para obtener Puro-TV, pero no se detallan las secuencias en las que se dieron los hechos de recombinación de las dos primeras. Formula en 9A y 9B, respectivamente, una hipótesis acerca de cuáles son las secuencias en las que han ocurrido los hechos de recombinación en la primera y la tercera de dichas recombinerías. Explica en 9C-9G la función natural, si la tienen, de las secuencias PGK/EM7 prom, bpA, *loxP*, *PuroΔtk* y *F3* (y si se trata de un gen, indica la actividad de su producto génico), respectivamente, y en 9H-9L su uso habitual en Ingeniería Genética (especificando si fuese necesario la parte relevante del genotipo de las células hospedadoras y de la composición del medio de cultivo para la selección de transformantes).

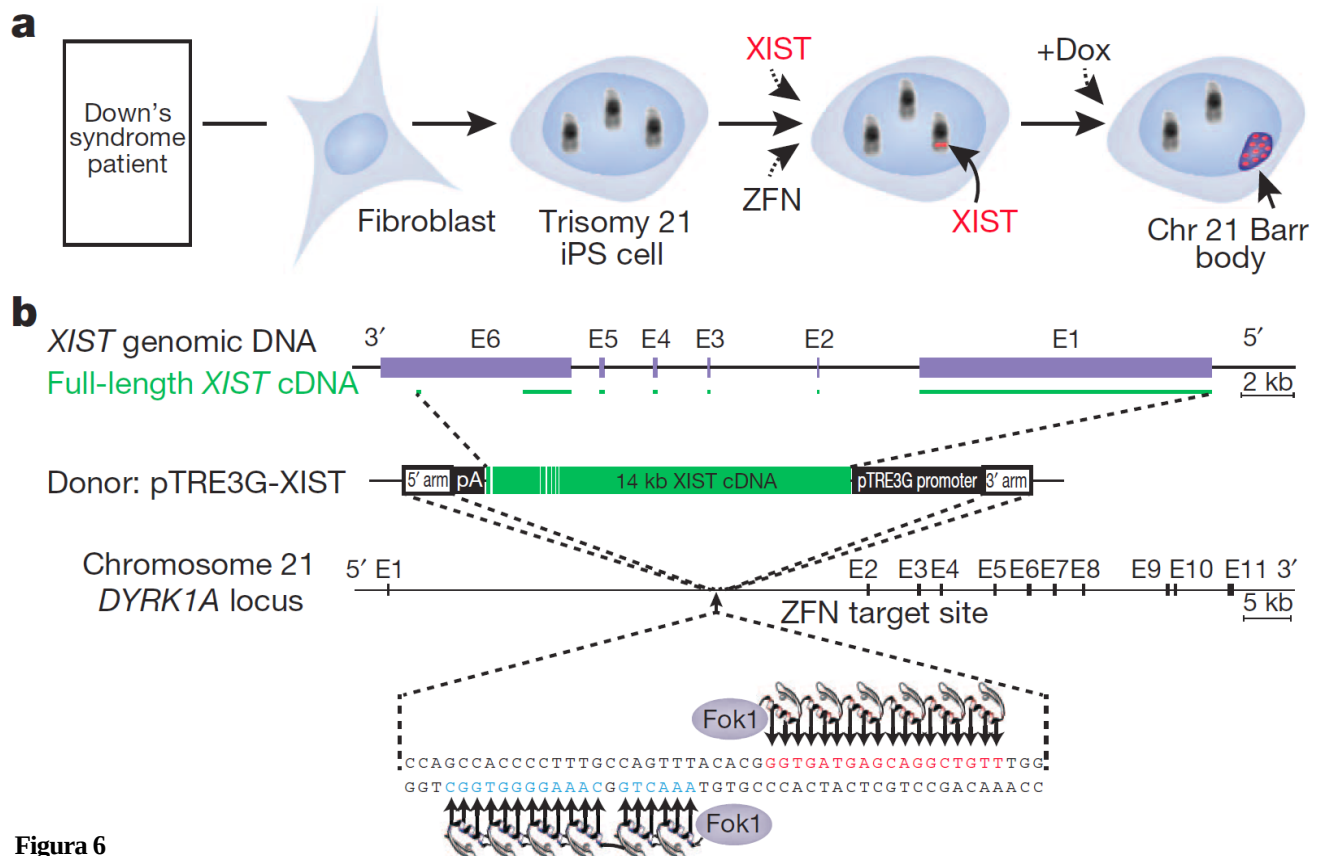


10.- Indica en 10A cuál es la denominación del sistema de recombinación más común, en qué tipo de recombinación se basa, y qué dos parejas de proteínas puede emplear. Se transfetaron con la construcción Puro-TV (Figura 4) células JM8.A3 en cultivo, que fueron manipuladas según se representa en la Figura 5a.



Interpreta la Figura 5a explicando en 10B el motivo de que el marcador Amp^R que aparece en su primera fila esté ausente de la tercera. Indica en 10C qué representa el símbolo ∇ y qué denominación reciben las regiones adyacentes. Explica en 10D cuál es la función natural y el uso genérico que se le da en Ingeniería Genética a la secuencia Rox y en 10E cuál es su uso concreto en el experimento representado en la Figura 5a. Interpreta sucintamente en 10F-10I los resultados de las amplificaciones de PCR cuyos resultados se visualizan en las calles 2-5 (numeradas de izquierda a derecha) del gel de la Figura 5b.

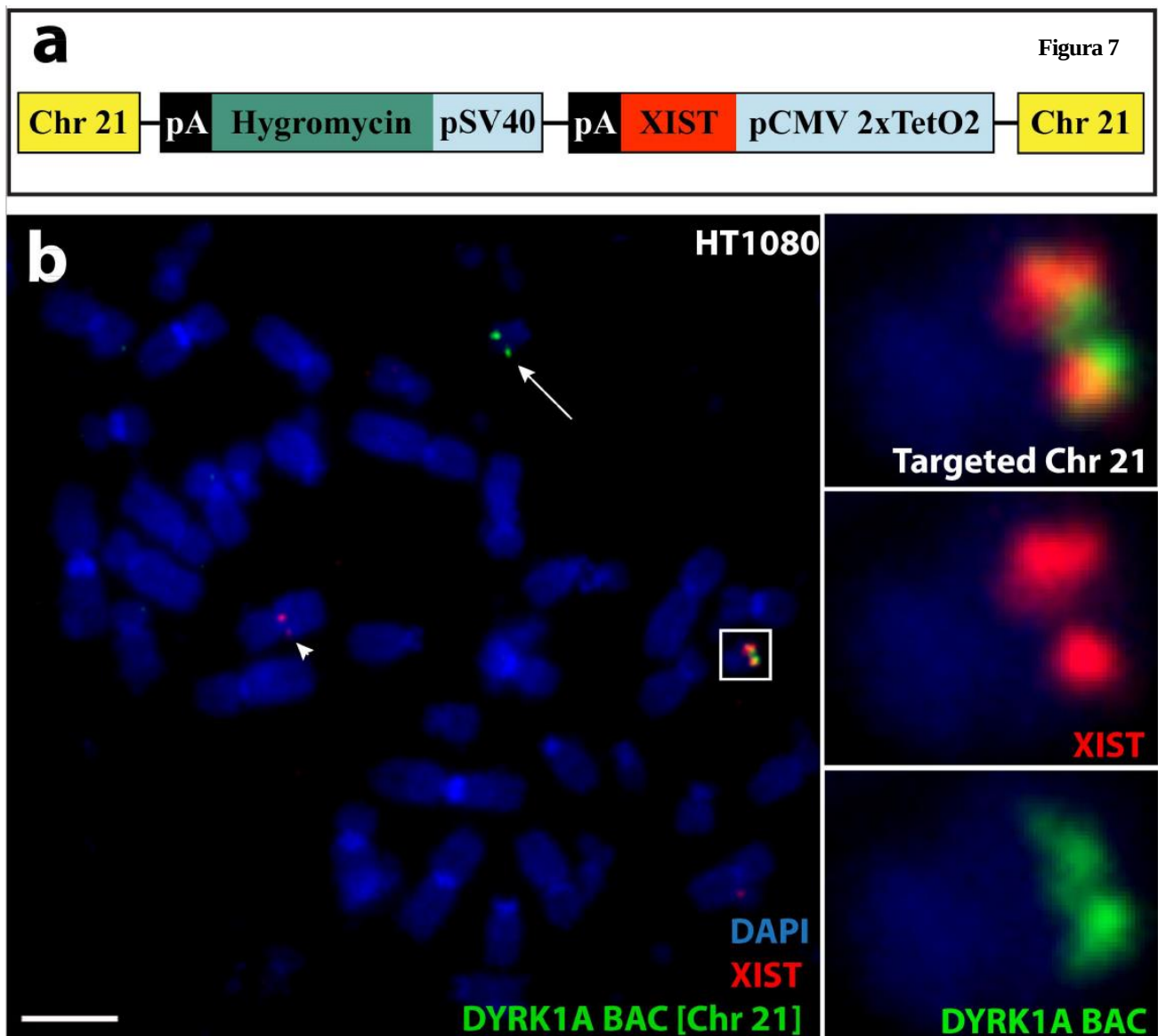
Todas las amplificaciones de PCR cuyos resultados se visualizan en la Figura 5c se realizaron con la misma pareja de cebadores, cuya representación se ha omitido. En base a la información que aporta esta figura, ordena los alelos del locus *mir-290~295*, de mayor a menor longitud, en 10J-10N.



11.- Muchas proteínas presentan dominios con una organización modular que es el resultado de fusiones de genes ocurridas a lo largo de la evolución. No pocos dominios modulares conservan su actividad cuando son separados mediante proteólisis del resto de la proteína de la que forman parte. La manipulación mediante las técnicas de la Ingeniería Genética de los genes que codifican proteínas modulares ha permitido obtener numerosas nuevas combinaciones de dominios; son ejemplos de ello las nucleasas con dedos de zinc (*Zinc Finger Nucleases*; *ZFN*) y los sistemas de expresión génica inducibles por tetraciclina, como el denominado Tet-On 3G, que emplea la proteína transactivadora dependiente de tetraciclina.

La expresión del gen *XIST* causa la inactivación de casi todos los restantes genes de uno de los dos cromosomas X en la mayoría de las células de las hembras de los mamíferos placentarios. El producto del gen *XIST* es un ARN largo no codificante (*long non-coding RNA*), el contribuyente mayoritario a la compensación de dosis: casi todas las proteínas que producen los genes del cromosoma X se encuentran en las células masculinas (XY) y femeninas (XX) en cantidades similares. Tres grupos de investigadores norteamericanos publicaron en *Nature* en 2013 que *XIST* puede ser transferido al cromosoma 21 para inactivar sus genes. Para demostrarlo, emplearon células trisómicas en cultivo, que contaban con tres cromosomas 21, logrando inactivar uno de ellos tras integrarle una copia del gen *XIST* mediante técnicas convencionales de Ingeniería Genética. Esta investigación ha sentado las bases del desarrollo de futuras terapias para el síndrome de Down, que se manifiesta en uno de cada 800 nacidos vivos y se debe a una trisomía total o parcial del cromosoma 21.

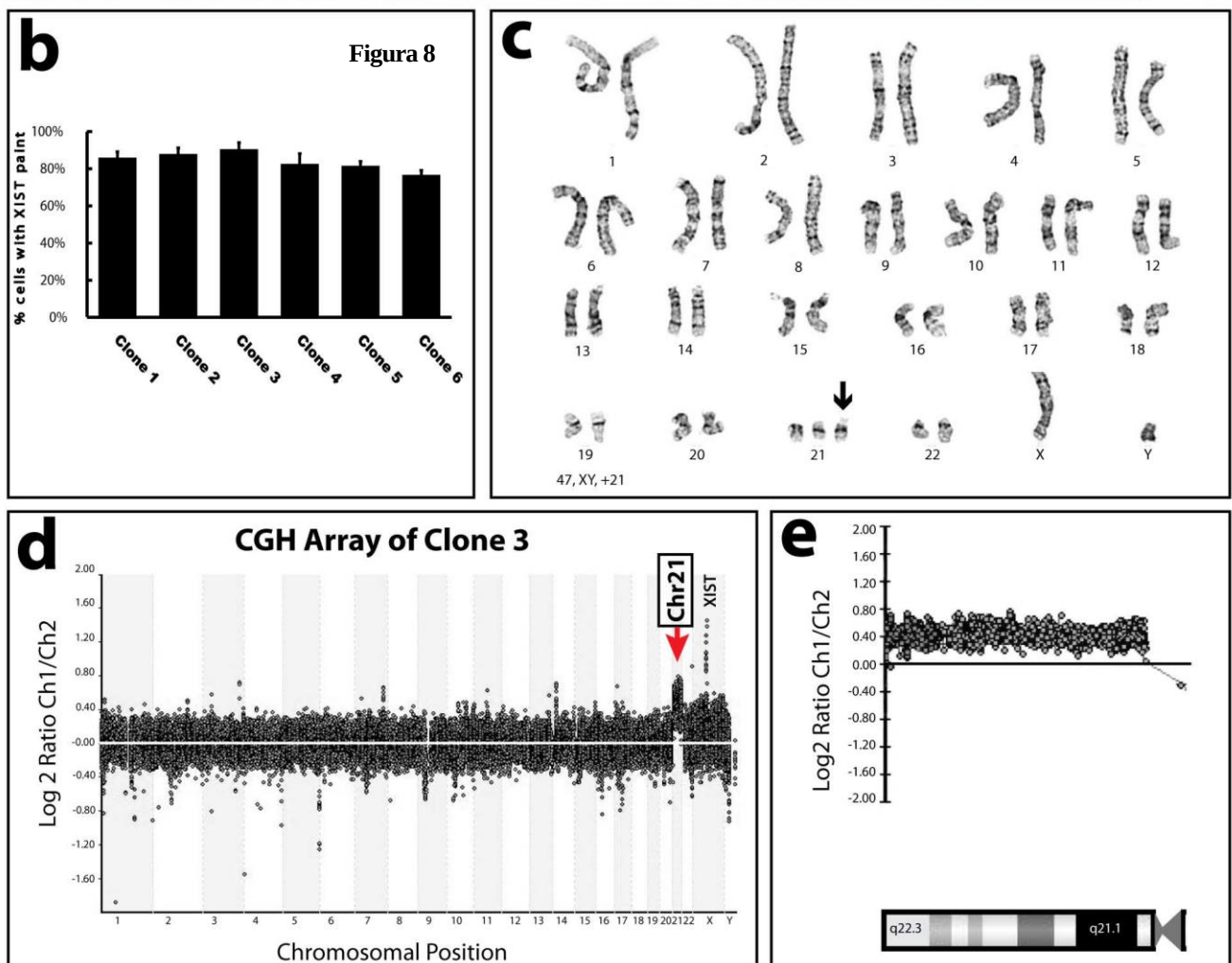
Las Figuras 6-11 se han tomado del artículo mencionado en el párrafo anterior. Indica en 11A las tres instituciones a las que pertenecen los investigadores que han participado en dicho artículo, y en 11B el nombre del autor principal. Interpreta la Figura 6a, explicándola sucintamente en 11C. Explica en 11D-11H, respectivamente, qué son y para qué se han usado en la investigación que aquí se discute “*XIST* genomic DNA”, “Full length *XIST* cDNA”, “Donor: pTRE3G-*XIST*”, “Chromosome 21 *DYRK1A* locus” y “*ZFN* target site”.



12.- Busca en internet una imagen en la que se detalle la estructura del promotor pTRE3G que se menciona en la Figura 6 y pégala en 12A. Haz otro tanto en 12B con el vector pTRE3G. Explica en 12C-12K, respectivamente, qué son y para qué sirven las moléculas, secuencias y sistemas denominados TetR, tTA, Dox, CMV, TRE, *tetO*, Tet-Off, Tet-On y Tet-On 3G.

13.- Explica en 13A cómo se obtuvo y para qué sirve la molécula que aparece dos veces en la parte inferior de la Figura 6, en uno de cuyos extremos se representa un óvalo con el rótulo “Fok1”. Busca en internet y pega en 13B una figura que ayude a comprender tu respuesta a la pregunta 13A. Interpreta en 13C y 13D, respectivamente, los apartados a y b de la Figura 7; en este problema y en todos los siguientes la interpretación debe hacerse con el mayor grado de detalle posible, explicando las imágenes y los rótulos de texto de cada figura, el método que se ha empleado para obtener los resultados y la conclusión a la que conducen.

14.- Busca en internet y pega en 14A una imagen que ilustre los fundamentos de la técnica denominada “CGH Array” y explícala en 14B. Interpreta en 14C-14F, respectivamente, los apartados b-e de la Figura 8.



15.- Interpreta en 15A la Figura 9a. Indica en 15B a qué técnica corresponden los electroferogramas de la Figura 9b, e interprétalos en 15C. Explica en 15D el motivo de que en estos electroferogramas aparezcan algunos picos dobles (superpuestos). Interpreta en 15E la Figura 9c.

16.- En la Figura 10a se muestran los resultados de cinco análisis de micromatrices, en los que se estudiaron los niveles de expresión de todos los genes humanos, agrupados por cromosomas. Se compararon los resultados de (1) una línea celular disómica con otra trisómica 21, (2) de la línea trisómica 21 a partir de la cual se obtuvieron las descritas en el artículo, en presencia y ausencia de doxiciclina, y (3-5) de tres clones en los que se había conseguido la integración de *XIST* en uno de sus cromosomas 21, también en presencia y ausencia de doxiciclina. Interpreta en 16A-16C los apartados a-c de la Figura 10, respectivamente. Interpreta en 16D la Figura 11.

Figura 9

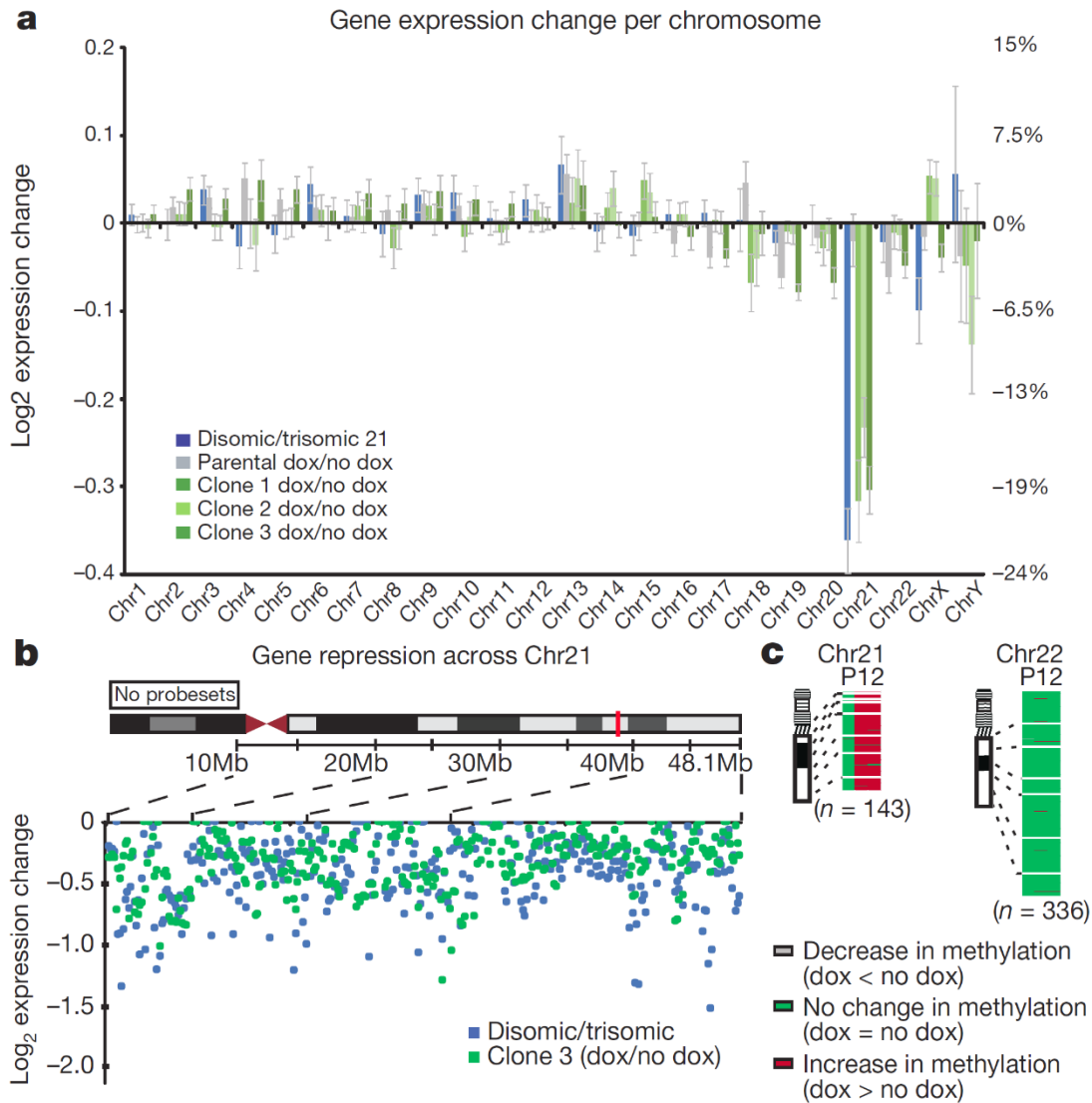
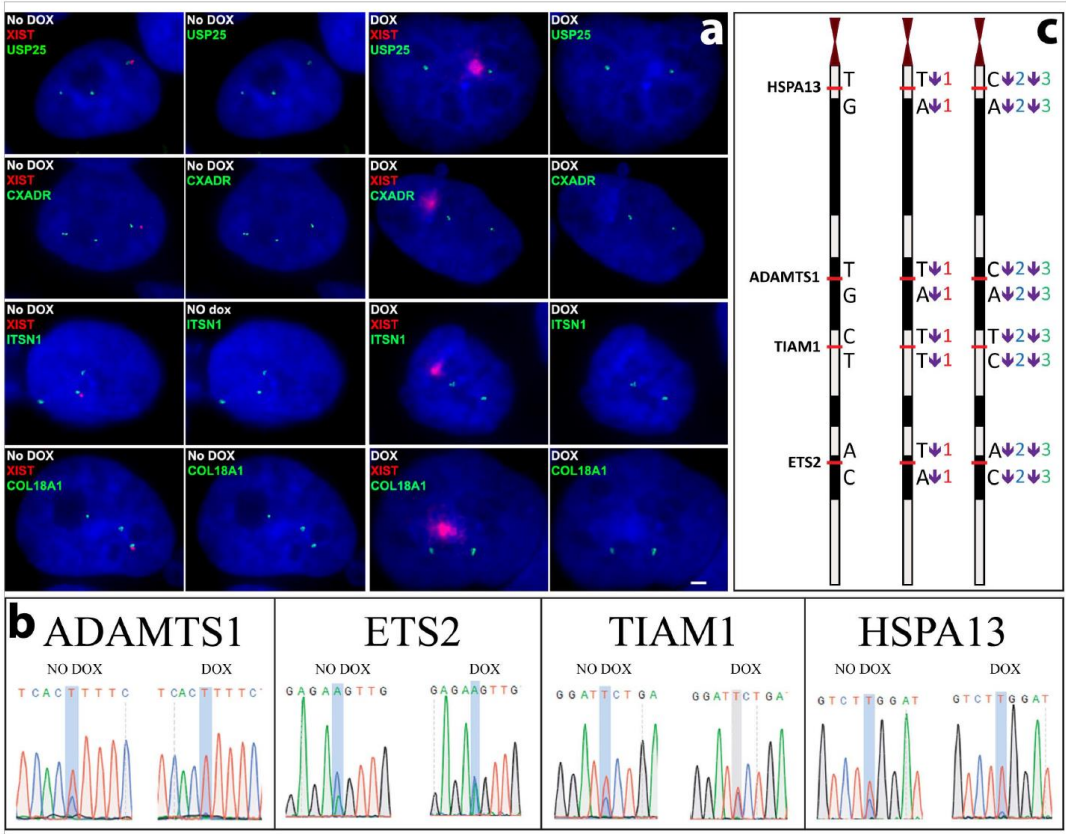


Figura 10

Figura 11

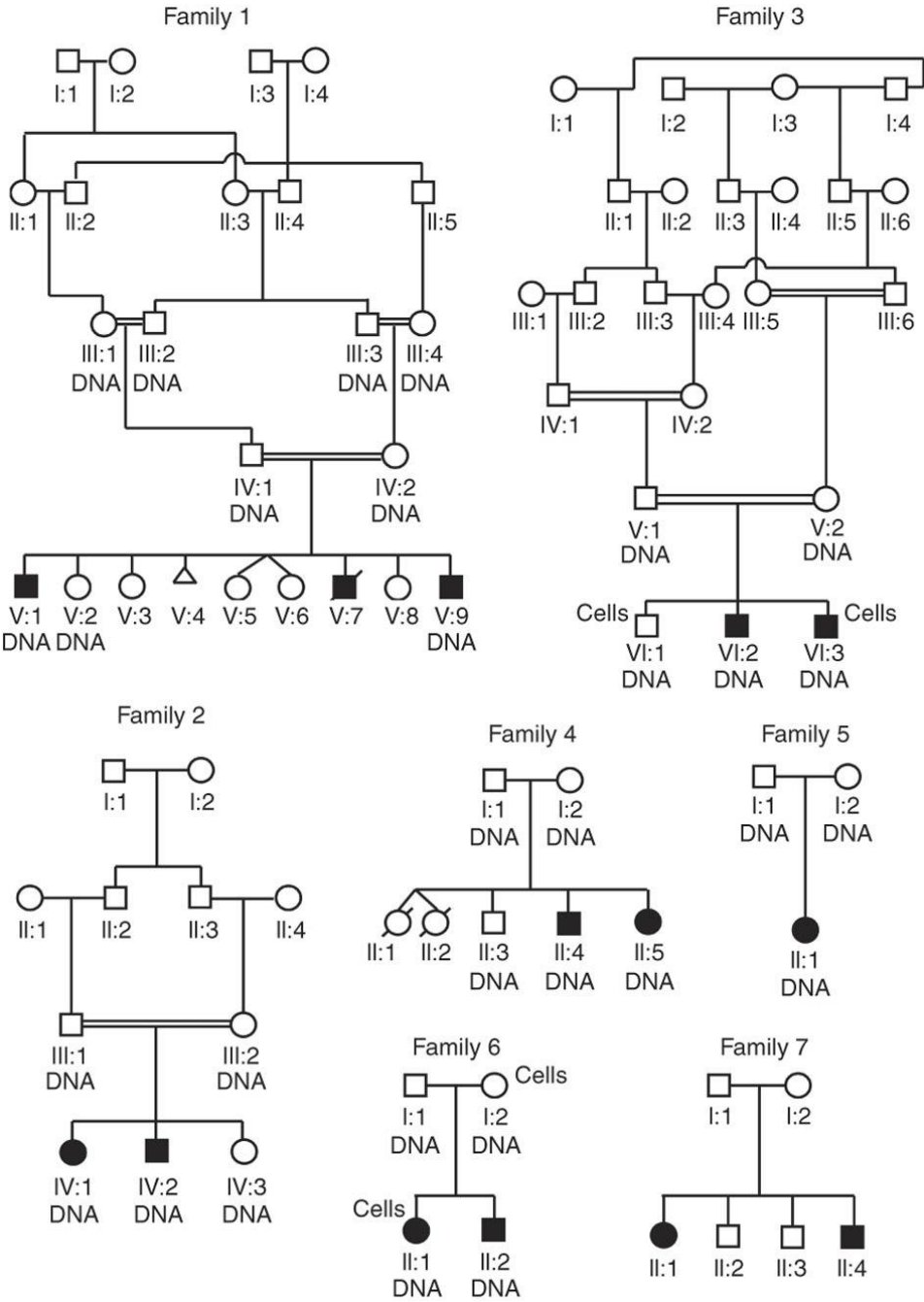
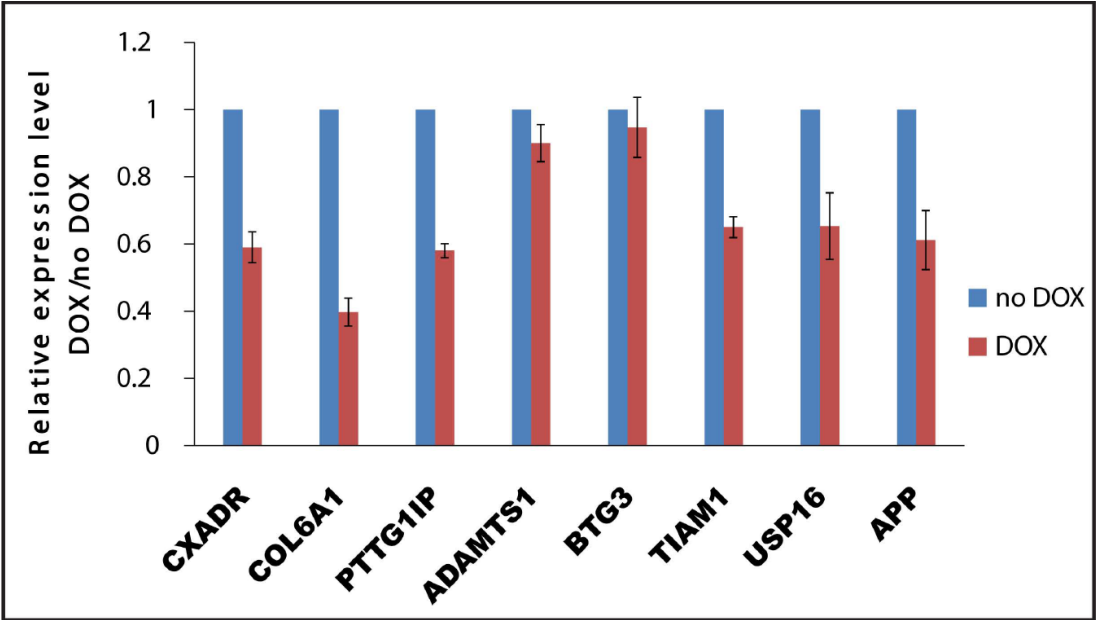
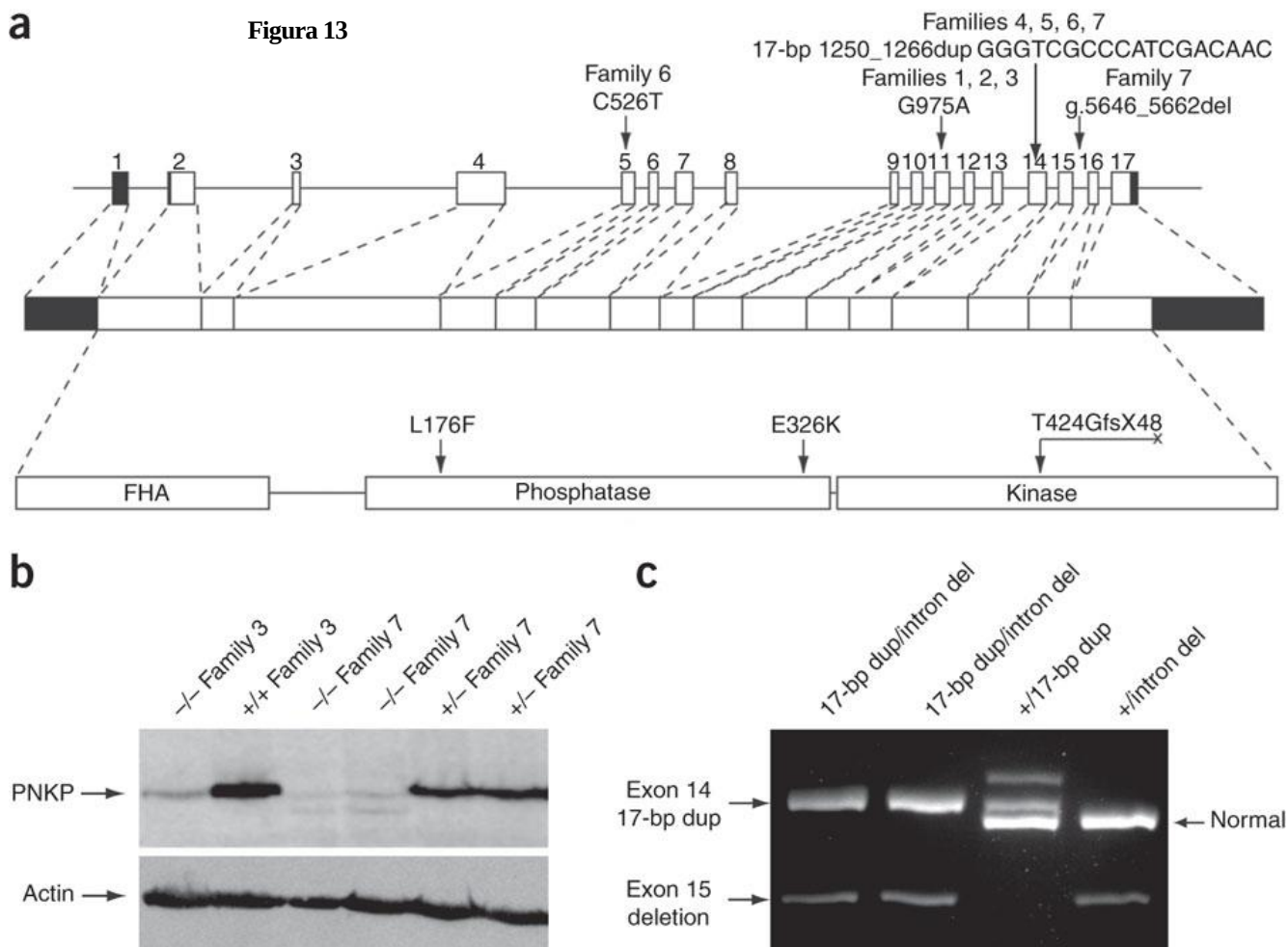


Figura 12

17.- El árbol genealógico de la Figura 12 representa la transmisión, en varias familias presuntamente no emparentadas, de una enfermedad hereditaria que se manifiesta con penetrancia completa. Explica en 17A-17D si estos árboles genealógicos (considérense todos en conjunto) son compatibles con los modos de herencia autosómico dominante, autosómico recesivo, ligado al sexo dominante y ligado al sexo recesivo, respectivamente. La Figura 13 muestra los resultados del análisis del exoma de algunos de los individuos representados en la Figura 12: se indican la estructura del gen causante de la enfermedad, la de su ARNm y la de su producto proteico (13a). En la figura también se visualizan esta última proteína (13b) y los productos de varias amplificaciones mediante RT-PCR (13c), a partir de muestras obtenidas de algunos de los individuos de la familia 7. Explica en 17E las expresiones C526T, G975A y g.5646_5662del, L176F, E326K y T424GfsX48 que aparecen en 13a. Indica en 17F cómo se denomina la técnica a la que corresponde la Figura 13b; explica esta figura. Formula en 17G una hipótesis que explique la banda superior de la calle +/17-bp dup de 13c.



18.- Las tecnologías de secuenciación masiva de Illumina (HiSeq), Life Technologies (Ion Proton), Roche (454), Pacific Biosciences y Oxford Nanopore Technologies se describen, respectivamente, en (A1) <https://www.youtube.com/watch?v=womKfikWlxM>, (A2) <https://www.youtube.com/watch?v=jv-JHafk4UA>, (A3) <http://www.youtube.com/watch?v=bFNjxKHP8Jc>, (A4) <https://www.youtube.com/watch?v=v8p4ph2MAvI> y (A5) <https://www.youtube.com/watch?v=3UHW22hBpAk>. Responde a las siguientes preguntas en relación a estas tecnologías, indicando a la vez en qué animación y en qué minuto y segundo aparecen las imágenes relacionadas con tu respuesta. ¿Cuál de ellas se basa en el uso de nanoporos, qué proteínas los constituyen y cuál es la molécula que actúa como sensor del paso de los nucleótidos? (responde en 18A). En una de ellas se secuencian moléculas de ADN individuales. ¿Cuál es esta tecnología, qué tipo de nucleótidos emplea y cómo se detectan? (18B). ¿Cuál de ellas se basa en la detección de variaciones de pH, a qué se deben dichas variaciones y qué ventajas tiene este procedimiento frente a otros, en opinión de sus inventores? (18C). ¿En cuáles de ellas se lleva a cabo una PCR en emulsión y cuántos tipos de moldes y productos de amplificación están presentes en la superficie de cada microesfera? (18D). ¿En cuál de ellas se emplea la pirosecuenciación y qué enzimas participan en esta última? (18E). ¿En cuál de ellas se emplean terminadores reversibles y cómo actúan? (18F). ¿En cuál de ellas se emplea y en qué consiste la PCR puente? (18G).

19.- La Sequence Manipulation Suite (SMS; <http://www.bioinformatics.org/sms2/>) incluye programas de dominio público, útiles para la manipulación de secuencias nucleotídicas y peptídicas. Obtén en GenBank información sobre la variante CCDS11455.2 del gen *BRCA1* humano. ¿Contiene exones la secuencia de CCDS11455.2? (emplea el programa de la SMS que corresponda e indícalo en 19A junto a tu respuesta a la pregunta anterior). ¿Cuántas dianas de endonucleasas de restricción es capaz de identificar la SMS en una secuencia nucleotídica? (19B). ¿Cuántas endonucleasas de restricción cortan una vez (19C) o no cortan (19D) CCDS11455.2? ¿Qué endonucleasas de restricción cortan dos veces CCDS11455.2? (19E). ¿Cuál es el codón de la serina más usado en la traducción de CCDS11455.2? (19F). Diseña dos oligonucleótidos sintéticos en base a los nucleótidos 1-21 y 2080-2100 de CCDS11455.2 para su amplificación mediante PCR; analízalos con los programas de la SMS, copia y pega los resultados del análisis para cada uno de ellos en 19G y 19H, comentando en detalle aquellas de sus propiedades que permitan aceptarlo o descartarlo para su uso como cebador.

20.- El árbol genealógico de la Figura 14a representa la transmisión de una enfermedad hereditaria que se manifiesta con penetrancia completa y expresividad poco variable. Un análisis de polimorfismos de un solo nucleótido (SNP) reveló ligamiento entre el gen causante de la enfermedad y la región q23 del cromosoma 17 (Figura 14c).

Explica en 20A-20D si el árbol genealógico de la Figura 14a es compatible con los modos de herencia autosómico dominante, autosómico recesivo, ligado al sexo dominante y ligado al sexo recesivo, respectivamente. Explica en 20E-20K en relación a los SNP de la Figura 14c (rs1406012-rs717962, respectivamente) cuáles no son informativos y cuáles cosegregan o no con la enfermedad. El gen que causa la enfermedad a estudio fue identificado tras secuenciar varios genes candidatos de la región 17q23, comprobándose que la mutación responsable de su insuficiencia de función es la que se describe en los electroferogramas de la Figura 14d. Explica en 20L si dicha mutación se corresponde con alguno de los SNP de la Figura 14c.

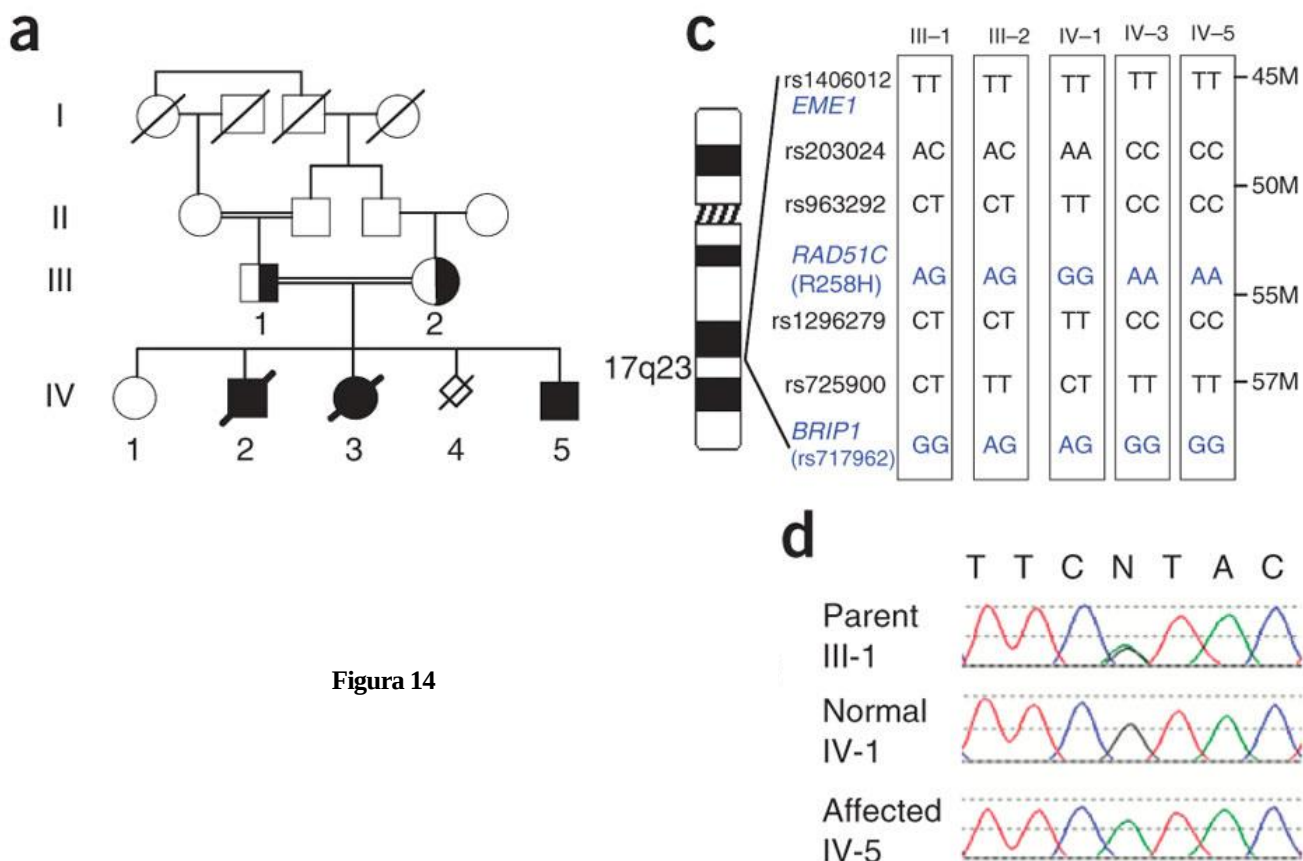


Figura 14

Área de Genética

Departamento de Biología Aplicada

Universidad Miguel Hernández

Grado en Biotecnología

Curso 2014-15

Hoja de respuestas a la serie 1 de problemas

Remitir a jlmicol@umh.es indicando *IG1* en el campo del asunto del mensaje. Debe remitirse también otro mensaje que contenga un archivo adjunto con al menos una diapositiva por problema, indicando *IG1D* en el asunto. El nombre de los archivos será *Apellido1 Apellido2 Nombre* (del remitente). La hoja de respuestas debe rellenarse empleando un visor de archivos pdf (como Acrobat Reader XI) y grabarse en formato *pdf*. Solo se admitirán archivos *pdf* para las hojas de respuestas rellenas y *ppt* o *pptx* para las diapositivas.

Apellidos:	Nombre:	Foto
1A		
1B		
1C		
1D		
1E		
1F		
1G		
1H		
2A		

Área de Genética

Departamento de Biología Aplicada

Universidad Miguel Hernández

Grado en Biotecnología

Curso 2014-15

Hoja de respuestas a la serie 2 de problemas

Remitir a jlmicol@umh.es indicando IG2 en el campo del asunto del mensaje. Debe remitirse también otro mensaje que contenga un archivo adjunto con al menos una diapositiva por problema, indicando IG2D en el asunto. El nombre de los archivos será *Apellido1 Apellido2 Nombre* (del remitente). La hoja de respuestas debe rellenarse empleando un visor de archivos pdf (como Acrobat Reader XI) y grabarse en formato *pdf*. Solo se admitirán archivos *pdf* para las hojas de respuestas rellenas y *ppt* o *pptx* para las diapositivas.

Apellidos:		Nombre:		Foto
3A				
3B				
3C	3E	3F	3H	
3D				
3G				
3I		3J		
3K				
4A	4B	4D		
4C				
4E				
4F				

Área de Genética

Departamento de Biología Aplicada

Universidad Miguel Hernández

Grado en Biotecnología

Curso 2014-15

Hoja de respuestas a la serie 3 de problemas

Remitir a jlmicol@umh.es indicando *IG3* en el campo del asunto del mensaje. Debe remitirse también otro mensaje que contenga un archivo adjunto con al menos una diapositiva por problema, indicando *IG3D* en el asunto. El nombre de los archivos será *Apellido1 Apellido2 Nombre* (del remitente). La hoja de respuestas debe rellenarse empleando un visor de archivos pdf (como Acrobat Reader XI) y grabarse en formato *pdf*. Solo se admitirán archivos *pdf* para las hojas de respuestas rellenas y *ppt* o *pptx* para las diapositivas.

Apellidos:	Nombre:	Foto
5A		
5B		
5C		
6A		
6B		
6C		
6D		
6E		
6F		
6G		
6H		
6I		
6J		

Área de Genética

Departamento de Biología Aplicada

Universidad Miguel Hernández

Grado en Biotecnología

Curso 2014-15

Hoja de respuestas a la serie 4 de problemas

Remitir a jlmicol@umh.es indicando *IG4* en el campo del asunto del mensaje. Debe remitirse también otro mensaje que contenga un archivo adjunto con al menos una diapositiva por problema, indicando *IG4D* en el asunto. El nombre de los archivos será *Apellido1 Apellido2 Nombre* (del remitente). La hoja de respuestas debe rellenarse empleando un visor de archivos pdf (como Acrobat Reader XI) y grabarse en formato *pdf*. Solo se admitirán archivos *pdf* para las hojas de respuestas rellenas y *ppt* o *pptx* para las diapositivas.

Apellidos:	Nombre:	Foto
7A		
7B		
7C		
7D		
7E		
7F		
7G		
7H		
7I		
7J		
7K		
7L		
7M		
7N		
7N		
7O		
8A		
8B		
8C		
8D		

Área de Genética

Departamento de Biología Aplicada

Universidad Miguel Hernández

Grado en Biotecnología

Curso 2014-15

Hoja de respuestas a la serie 5 de problemas

Remitir a jlmicol@umh.es indicando *IG5* en el campo del asunto del mensaje. Debe remitirse también otro mensaje que contenga un archivo adjunto con al menos una diapositiva por problema, indicando *IG5D* en el asunto. El nombre de los archivos será *Apellido1 Apellido2 Nombre* (del remitente). La hoja de respuestas debe rellenarse empleando un visor de archivos pdf (como Acrobat Reader XI) y grabarse en formato *pdf*. Solo se admitirán archivos *pdf* para las hojas de respuestas rellenas y *ppt* o *pptx* para las diapositivas.

Apellidos:	Nombre:	Foto
9A		
9B		
9C		
9D		
9E		
9F		
9G		
9H		
9I		
9J		
9K		
9L		
10A		
10B		
10C		
10D		
10E		
10F		
10G		
10H		
10I		
10J		
10K		
10L		
10M		
10N		

Área de Genética

Departamento de Biología Aplicada

Universidad Miguel Hernández

Grado en Biotecnología

Curso 2014-15

Hoja de respuestas a la serie 6 de problemas

Remitir a jlmicol@umh.es indicando *IG6* en el campo del asunto del mensaje. Debe remitirse también otro mensaje que contenga un archivo adjunto con al menos una diapositiva por problema, indicando *IG6D* en el asunto. El nombre de los archivos será *Apellido1 Apellido2 Nombre* (del remitente). La hoja de respuestas debe rellenarse empleando un visor de archivos pdf (como Acrobat Reader XI) y grabarse en formato *pdf*. Solo se admitirán archivos *pdf* para las hojas de respuestas rellenas y *ppt* o *pptx* para las diapositivas.

Apellidos:	Nombre:	Foto
11A		
11B		
11C		
11D		
11E		
11F		
11G		
11H		
12A	12B	
12C		
12D		
12E		
12F		
12G		
12H		
12I		
12J		
12K		

Área de Genética

Departamento de Biología Aplicada

Universidad Miguel Hernández

Grado en Biotecnología

Curso 2014-15

Hoja de respuestas a la serie 7 de problemas

Remitir a jlmicol@umh.es indicando IG7 en el campo del asunto del mensaje. Debe remitirse también otro mensaje que contenga un archivo adjunto con al menos una diapositiva por problema, indicando IG7D en el asunto. El nombre de los archivos será *Apellido1 Apellido2 Nombre* (del remitente). La hoja de respuestas debe rellenarse empleando un visor de archivos pdf (como Acrobat Reader XI) y grabarse en formato *pdf*. Solo se admitirán archivos *pdf* para las hojas de respuestas rellenas y *ppt* o *pptx* para las diapositivas.

Apellidos:	Nombre:	Foto
13A		
13B	13C	
13D		
14A	14B	
14C		
14D		
14E		
14F		

Área de Genética

Departamento de Biología Aplicada

Universidad Miguel Hernández

Grado en Biotecnología

Curso 2014-15

Hoja de respuestas a la serie 8 de problemas

Remitir a jlmicol@umh.es indicando *IG8* en el campo del asunto del mensaje. Debe remitirse también otro mensaje que contenga un archivo adjunto con al menos una diapositiva por problema, indicando *IG8D* en el asunto. El nombre de los archivos será *Apellido1 Apellido2 Nombre* (del remitente). La hoja de respuestas debe rellenarse empleando un visor de archivos pdf (como Acrobat Reader XI) y grabarse en formato *pdf*. Solo se admitirán archivos *pdf* para las hojas de respuestas rellenas y *ppt* o *pptx* para las diapositivas.

Apellidos:	Nombre:	Foto
15A		
15B		
15C		
15D		
15E		
16A		
16B		
16C		
16D		

Área de Genética

Departamento de Biología Aplicada

Universidad Miguel Hernández

Grado en Biotecnología

Curso 2014-15

Hoja de respuestas a la serie 9 de problemas

Remitir a jlmicol@umh.es indicando *IG9* en el campo del asunto del mensaje. Debe remitirse también otro mensaje que contenga un archivo adjunto con al menos una diapositiva por problema, indicando *IG9D* en el asunto. El nombre de los archivos será *Apellido1 Apellido2 Nombre* (del remitente). La hoja de respuestas debe rellenarse empleando un visor de archivos pdf (como Acrobat Reader XI) y grabarse en formato *pdf*. Solo se admitirán archivos *pdf* para las hojas de respuestas rellenas y *ppt* o *pptx* para las diapositivas.

Apellidos:	Nombre:	Foto
17A		
17B		
17C		
17D		
17E		
17F		
17G		
18A		
18B		
18C		
18D		
18E		
18F		
18G		

Área de Genética

Departamento de Biología Aplicada

Universidad Miguel Hernández

Grado en Biotecnología

Curso 2014-15

Hoja de respuestas a la serie 10 de problemas

Remitir a jlmicol@umh.es indicando *IG10* en el campo del asunto del mensaje. Debe remitirse también otro mensaje que contenga un archivo adjunto con al menos una diapositiva por problema, indicando *IG10D* en el asunto. El nombre de los archivos será *Apellido1 Apellido2 Nombre* (del remitente). La hoja de respuestas debe rellenarse empleando un visor de archivos pdf (como Acrobat Reader XI) y grabarse en formato *pdf*. Solo se admitirán archivos *pdf* para las hojas de respuestas rellenas y *ppt* o *pptx* para las diapositivas.

Apellidos:			Nombre:		Foto
19A					
19B	19C	19D	19E	19F	
19G					
19H					
20A					
20B					
20C					
20D					
20E					
20F					
20G					
20H					
20I					
20J					
20K					
20L					

Área de Genética

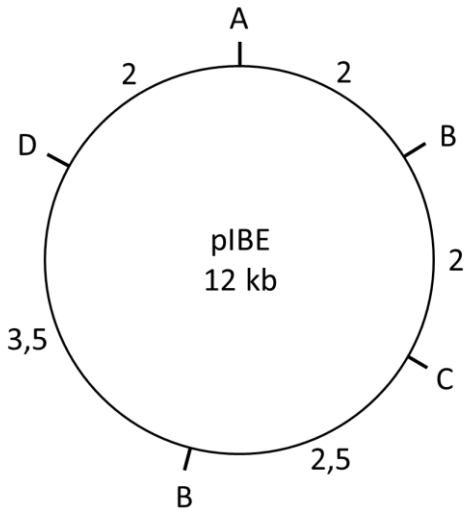
Departamento de Biología Aplicada

Universidad Miguel Hernández

Grado en Biotecnología

Curso 2014-15

Hoja de respuestas a la serie 1 de problemas

Apellidos:	Nombre:	Foto
1A H ₂ N-MMMMMMMMMM-COOH. Los tres ARNm solo difieren en su codón de terminación.		
1B 5'-(CTA/TTA/TCA)CATCATCATCATCATCATCATCAT-3'		
1C 5'-ATGATGATGATGATGATGATGATGATGATG(TAG/TAA/TGA)-3'		
1D H ₂ N-MLLLLLLLLL-COOH. Es válida cualquier secuencia con una M inicial y nueve L, S o R.		
1E H ₂ N-M-...-SK-COOH o H ₂ N-M-...-VSK-COOH		
1F H ₂ N-M-...-SK-COOH o H ₂ N-M-...-VSNVS-...-COOH		
1G En el ADN.		
1H No puede establecerse.		
2A 		

Área de Genética

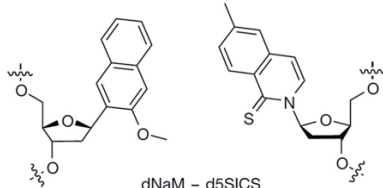
Departamento de Biología Aplicada

Universidad Miguel Hernández

Grado en Biotecnología

Curso 2014-15

Hoja de respuestas a la serie 2 de problemas

Apellidos:		Nombre:		Foto
3A No. La ausencia de la miostatina y la eliminación de todos sus aminoácidos menos los dos primeros deberían causar el mismo efecto fenotípico.				
3B No, como en 3A. Que la mutación sea espontánea o inducida es irrelevante.				
3C Bully whippet.	3E 	3F No se conoce ningún caso.	3H 	
3D No se conoce ningún caso.				
3G Un niño alemán cuyo nombre no se ha hecho público.				
3I 5'-CCTATACATAGGTGATTGAGG-3'		3J 5'-CCTATGTATATCAATCACCGG-3'		
3K 94°C, 30 s; 35 x (94°C, 30 s; 45,5°C, 10 s; 72°C, 3 min); 72°C, 10 min; 4°C, ∞				
4A Floyd E. Romesberg, Scripps Institute, La Jolla, California, USA.	4B 	4D  dNaM - d5SICS		
4C d5SICSTP y dNaMTP.				
4E (1) Obtener dos nuevos nucleótidos X e Y que no distorsionen la doble hélice, (2) que no impidan la transcripción del ADN a ARN, (3) que puedan formar un par de bases X-Y estable, (4) que no se apareen con A, C, G ni T, (5) que no sean rechazados por la maquinaria de replicación, (6) que no sean eliminados por la maquinaria de reparación, (7) que no sean eliminados por algún mecanismo de defensa, y (8) que las células puedan sintetizarlos, o lo que es más sencillo, incorporarlos si se les suministran.				
4F El cálculo del número de variaciones con repetición de 6 elementos tomados de 3 en 3 rinde el de tripletes posibles en un alfabeto genético de 6 letras. Restando de este valor el número de codones del código genético natural se obtiene $6^3 - 64 = 152$.				

Área de Genética

Departamento de Biología Aplicada

Universidad Miguel Hernández

Grado en Biotecnología

Curso 2014-15

Hoja de respuestas a la serie 3 de problemas

Apellidos:	Nombre:	Foto
5A pGEM-T Easy, 3015 pb; pCR-TOPO, 3931 pb; pENTR/D-TOPO, 2580 pb; pUC18, 2686 pb; pGEM-3Z, 2743 pb.		
5B Detailed description of the gel image: The gel shows two main sections: 'Sin digerir' and 'Digeridos'. Each section has five lanes numbered 1 to 5. Lane M contains a DNA ladder with markers at 4072, 3054, 2036, 1636, 1018, 517, and 201 pb. In the 'Sin digerir' section, lane 1 shows a band at 3015 pb, lane 2 at 3931 pb, and lane 3 at 2580 pb. In the 'Digeridos' section, lane 1 shows a band at 3931 pb, lane 2 at 2580 pb, lane 3 at 2671 pb, lane 4 at 2743 pb, and lane 5 shows multiple bands at 1720, 1096, and 199 pb. The 199 pb band is the result of a PvuII digestion of the 3015 pb pGEM-T Easy vector.		
5C <i>PvuI</i> no debería haberse empleado para digerir pGEM-T Easy, ya que se trata de un vector lineal, con dianas de <i>PvuI</i> en sus posiciones 1780 y 2876 pb, por lo que rinde tres fragmentos de restricción, de 1780-60=1720 pb, 2876-1780=1096 pb y 3015-2876+60=199 pb. Los vectores pCR 2.1-TOPO y pENTR/D-TOPO también son lineales y no requieren corte alguno previo a su uso. Además, <i>AccI</i> y <i>XmaI</i> no cortan pCR 2.1-TOPO y pENTR/D-TOPO, respectivamente.		
6A Amp^S y <i>lacZ</i> ΔM15		
6B <i>lacZ</i> ΔM15 y Amp^S o Kan^S		
6C Kan^S		
6D Amp^S y <i>lacZ</i> ΔM15		
6E Amp^S y <i>lacZ</i> ΔM15		
6F Ampicilina, IPTG y X-gal		
6G Ampicilina o kanamicina, IPTG y X-gal		
6H Kanamicina		
6I Ampicilina, IPTG y X-gal		
6J Ampicilina, IPTG y X-gal		

Área de Genética

Departamento de Biología Aplicada

Universidad Miguel Hernández

Grado en Biotecnología

Curso 2014-15

Hoja de respuestas a la serie 4 de problemas

Apellidos:	Nombre:	Foto
7A La tecnología Gateway.		
7B T-DNA left border (LB): Borde izquierdo del ADN-T del plásmido pTi de <i>Agrobacterium tumefaciens</i> . Se requiere para la inserción del ADN-T en un genoma vegetal.		
7C T-DNA right border (RB): Borde derecho del ADN-T del plásmido pTi de <i>A. tumefaciens</i> . Se requiere para la inserción del ADN-T en un genoma vegetal.		
7D El gen <i>ccdB</i> del plásmido F codifica una proteína que inhibe a la topoisomerasa II, impidiendo la replicación del ADN y resultando tóxica para muchas estirpes de <i>E. coli</i> .		
7E El gen Gm ^R (<i>aacC1</i>) de <i>Acinetobacter baumannii</i> codifica la gentamicina 3'-acetil transferasa, que confiere resistencia a gentamicina, un inhibidor de la síntesis de proteínas.		
7F El cloranfenicol es un antibiótico que inhibe la actividad del ribosoma. El gen Cm ^R (<i>cat</i>) codifica la cloranfenicol acetil transferasa, que inactiva al cloranfenicol.		
7G La DL-fosfotricina (glufosinato de amonio) inhibe la biosíntesis de glutamina. El gen <i>bar</i> de <i>Streptomyces hygroscopicus</i> confiere resistencia a este herbicida, ya que codifica la fosfotricina acetil transferasa.		
7H La higromicina inhibe la síntesis de proteínas tanto en eucariotas como en procariotas. El gen <i>hpt</i> de <i>Escherichia coli</i> codifica la higromicina fosfotransferasa, que inactiva a este antibiótico.		
7I Se requiere para la inserción del ADN-T en un genoma vegetal.		
7J Se requiere para la inserción del ADN-T en un genoma vegetal.		
7K El gen <i>ccdB</i> se usa como marcador para la selección negativa de las bacterias en las que no ha sido reemplazado por un inserto de interés. Las células hospedadoras deben ser <i>ccdB</i> ^S .		
7L El gen <i>aacC1</i> se usa como marcador seleccionable positivo. Las células hospedadoras son Gm ^S y el medio debe contener gentamicina.		
7M El gen <i>bar1</i> se usa como marcador seleccionable positivo. Las plantas hospedadoras son sensibles a la fosfotricina, que debe añadirse al medio.		
7N El gen <i>cat</i> se usa como marcador seleccionable positivo. Las células bacterianas y/o las plantas hospedadoras son Cm ^S y el medio debe contener cloranfenicol.		
7Ñ El gen <i>hpt</i> se usa como marcador seleccionable positivo. Las células hospedadoras son Gm ^S y el medio debe contener higromicina.		
7O Los genes <i>vir</i> , que codifican proteínas necesarias para la transferencia del ADN-T al genoma de la célula vegetal hospedadora (infectada).		
8A En una misma reacción LR se fusiona un gen de interés (GOI) a un promotor (<i>attL1</i> recombina con <i>attR1</i>) y la molécula resultante reemplaza al inserto del vector (<i>attL2</i> con <i>attR2</i> y <i>attL4</i> con <i>attR4</i>). El inserto reemplazado contenía dos marcadores: <i>ccdB</i> y Cm ^R .		
8B En una misma reacción LR se fusiona un marcador seleccionable (Gm ^R) a un promotor (<i>attL1</i> recombina con <i>attR1</i>) y la molécula resultante reemplaza al inserto del vector (<i>attL1</i> con <i>attR1</i> , y <i>attL4</i> con <i>attR4</i>). El marcador seleccionable es después reemplazado en una reacción BP por una construcción que contiene dos copias del gen <i>ccdB</i> , ambas flanqueadas por sitios <i>attR1</i> y <i>attR2</i> . La construcción así obtenida solo podrá ser incorporada a bacterias resistentes a <i>ccdB</i> (portadoras del gen <i>ccdA</i> , que produce una antitoxina de <i>ccdB</i>). En el vector 13 podrán reemplazarse los dos genes <i>ccdB</i> por dos copias invertidas de un gen de interés.		
8C En ambas construcciones se fusiona un gen de interés al de una proteína fluorescente (EGFP). La construcción 7 rendirá una proteína de fusión con la EGFP en el extremo carboxilo, y la 8, en el amino.		
8D Son diferentes versiones de los sitios <i>attL</i> , <i>attR</i> , <i>attB</i> y <i>attR</i> originales, cada una de las cuales recombina específicamente con solo otra variante: <i>attL4</i> con <i>attR4</i> , <i>attB3</i> con <i>attR3</i> , etc. Su existencia hace posible la recombinación simultánea de más de dos moléculas en reacciones LR o BP.		

Área de Genética

Departamento de Biología Aplicada

Universidad Miguel Hernández

Grado en Biotecnología

Curso 2014-15

Hoja de respuestas a la serie 5 de problemas

Apellidos:	Nombre:	Foto
9A Secuencias que flanquean al locus <i>mir-290~295</i> ("miRNA gene" en la figura).		
9B Parte de las secuencias PGK/EM7 prom y bpA.		
9C PGK/EM7 prom contiene un promotor eucariótico (PGK; del gen de la fosfogliceroquinasa) y otro procariótico (EM7; es un promotor bacteriano sintético derivado del de T7).		
9D bpA es el sitio (la señal) de poliadenilación del gen de la hormona de crecimiento bovina.		
9E <i>loxP</i> es la diana de la recombinasa Cre del fago P1 de <i>Escherichia coli</i> .		
9F Puro Δ tk codifica una proteína de fusión entre la puromicina N-acetiltransferasa y una versión truncada de la timidina quinasa del virus del herpes simple de tipo 1.		
9G <i>F3</i> es una variante de <i>FRT</i> , la diana de la flipasa FLP del plásmido de 2 μ de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> .		
9H Para fusionarlo a genes eucarióticos y/o procarióticos e inducir su transcripción.		
9I Para poliadenilar transcritos, facilitando la traducción de los correspondientes ARNm maduros.		
9J Para sustituir, delecionar, invertir o translocar secuencias floxadas en células (o animales) Cre.		
9K Transfección de células Pur ^S y FIAU ^R ; selección positiva en medio con puromicina o negativa con 1-(-2-desoxi-2-fluoro-1- β -D-arabino-furanosil)-5-yodouracilo (FIAU o fialuridina; un análogo de nucleósidos).		
9L Para sustituir, delecionar, invertir o translocar secuencias flanqueadas por <i>F3</i> y <i>FRT</i> .		
10A Red/ET; recombinación homóloga; Red α y Red β ; RecE y RecT.		
10B Se seleccionaron células Pur ^R Amp ^S , en las que la construcción se había insertado por recombinación homóloga. La inserción por recombinación ilegítima (al azar) rinde células Pur ^R Amp ^R .		
10C Extremo 5' de una unidad de transcripción; lo flanquean un promotor y una región 5' no traducida.		
10D Dre-rox es un sistema de recombinación específica de sitio análogo a Cre-lox.		
10E Deleción del marcador Neo ^R .		
10F La banda de 5.236 pb indica que algunas células JM8.A3 transfectadas son <i>mir-290~295</i> ^{PuroΔtk/+}		
10G La ausencia de bandas confirma que las células JM8.A3 carecían del alelo <i>mir-290~295</i> ^{PuroΔtk} antes de la transfección.		
10H Control negativo para comprobar la ausencia de productos de amplificación en ausencia de molde.		
10I Se obtiene la banda esperada de 3.043 pb, que revela la presencia de <i>mir-290~295</i> ^{PuroΔtk} , así como otra ligeramente menor de origen desconocido.		
10J <i>mir-290~295</i> ^{Neo Td-tomato}		
10K <i>mir-290~295</i> ^{PuroΔtk}		
10L <i>mir-290~295</i> ⁺		
10M <i>mir-290~295</i> ^{Td-tomato}		
10N <i>mir-290~295</i> ⁻		

Área de Genética

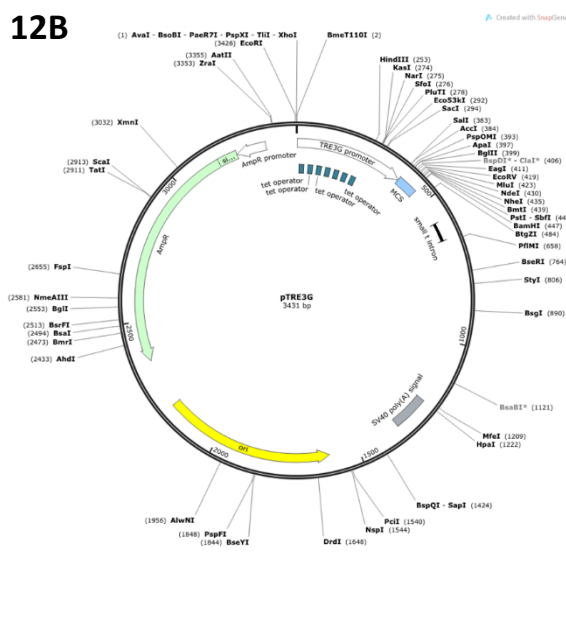
Universidad Miguel Hernández

Departamento de Biología Aplicada

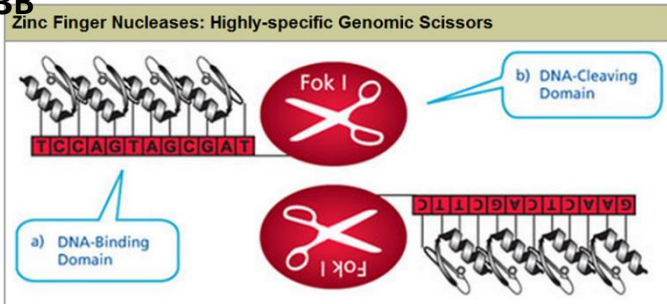
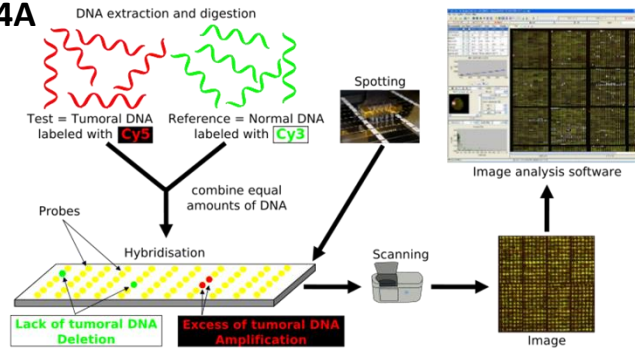
Grado en Biotecnología

Curso 2014-15

Hoja de respuestas a la serie 6 de problemas

Apellidos:	Nombre:	Foto
11A Department of Medical Genetics, University of British Columbia (Canadá), University of Massachusetts Medical School (USA) y Sangamo BioSciences (USA).		
11B Jeanne B. Lawrence.		
11C Se toman fibroblastos de un paciente con el síndrome de Down y se obtiene un cultivo de células pluripotentes inducidas trisómicas para el cromosoma 21, que son transformadas con construcciones portadoras de un transgén <i>XIST</i> inducible por doxiciclina y otro que produce una nucleasa con dedos de zinc. La integración de <i>XIST</i> en uno de los tres cromosomas 21 y su inducción por doxiciclina causa la inactivación de este cromosoma, que se manifiesta en la formación de un corpúsculo de Barr.		
11D Segmento del cromosoma X que contiene la unidad de transcripción del gen <i>XIST</i> .		
11E Molécula de ADNc retrotranscrita a partir del transcrito maduro más largo del gen <i>XIST</i> .		
11F Construcción en la que se ha colocado al ADNc de <i>XIST</i> bajo el control de pTRE3G, un promotor inducible por doxiciclina.		
11G <i>Dual specificity tyrosine-phosphorylation-regulated kinase 1A</i> ; es uno de los 33 genes de la región crítica del síndrome de Down.		
11H Es el segmento del gen <i>DYRK1A</i> que se ha elegido para diseñar una ZFN que la reconozca como diana y la corte, propiciando así la inserción de pTRE3G- <i>XIST</i> .		
12A	12B 	
12C Al operador (<i>tetO</i>) del operón de resistencia a tetraciclina de <i>Escherichia coli</i> se le une el represor TetR en ausencia de tetraciclina. Este antibiótico se une a TetR, inactivándolo e induciendo la expresión del operón.		
12D tTa es una proteína de fusión que incluye el represor de la tetraciclina (TetR) de <i>Escherichia coli</i> y el dominio activador de la transcripción de la proteína VP16 del virus del herpes simple.		
12E La doxiciclina es un análogo de la tetraciclina que se une muy eficazmente a la proteína tTa y la inactiva.		
12F CMV es un promotor mínimo, el del citomegalovirus.		
12G TRE es el elemento de respuesta a tetraciclina, que incluye 7 secuencias <i>tetO</i> , aguas arriba de un promotor mínimo de muy baja actividad basal.		
12H El operador <i>tetO</i> es la secuencia que es reconocida por la forma activa de la proteína tTa. El promotor pTRE3G tiene varios <i>tetO</i> en tándem.		
12I En los sistemas Tet-Off, la doxiciclina se une a la proteína tTa, inactivándola. Los genes controlados por un promotor TRE se transcribirán en ausencia de doxiciclina.		
12J En los sistemas Tet-On, la doxiciclina se une a la proteína rtTa (difiere de tTa en 4 aminoácidos de su dominio de unión a ADN), activándola. Los genes controlados por un promotor TRE se transcribirán solo en presencia de doxiciclina.		
12K El sistema Tet-On 3G es una versión mejorada del Tet-On original, en la que la proteína transactivadora tiene tres dominios VP16 y es sensible a dosis muy bajas de doxiciclina.		

Hoja de respuestas a la serie 7 de problemas

Apellidos:	Nombre:	Foto
13A <i>FokI</i> es una endonucleasa de restricción que tiene una estructura modular: sus dominios de reconocimiento y endonucleolítico pueden ser separados. Se han generado colecciones de endonucleasas con dedos de zinc (Zinc Finger Nucleases; ZFN), que contienen el dominio endonucleolítico de <i>FokI</i> y un dominio de reconocimiento artificial, con varios dedos de zinc, cada uno de los cuales reconoce una secuencia de tres nucleótidos.		
13B  Zinc Finger Nucleases: Highly-specific Genomic Scissors a) DNA-Binding Domain b) DNA-Cleaving Domain		13C Se realizó un ensayo previo para demostrar que se podía insertar un transgén <i>XIST</i> en uno de los dos cromosomas 21 de células HT1080 (XY). La construcción empleada incluía la unidad de transcripción de <i>XIST</i> flanqueada por un promotor mínimo pCMV unido a secuencias TetO y un gen de resistencia a higromicina bajo el control de un promotor pSV40. A ambas unidades de transcripción se les añadieron señales de poliadenilación (pA).
13D En esta hibridación in situ fluorescente (FISH) de una célula HT1080 se visualizan todos los cromosomas, que están teñidos con DAPI. La sonda contra <i>XIST</i> hibrida con el cromosoma X (punta de flecha) y con un cromosoma 21, colocalizando con la sonda contra <i>DYRK1A</i> (recuadro blanco en b e imágenes de la derecha). El otro cromosoma 21 no presenta el transgén y solo hibrida con la sonda <i>DYRK1A</i>.		
14A  DNA extraction and digestion Test = Tumoral DNA labeled with Cy3 Reference = Normal DNA labeled with Cy5 combine equal amounts of DNA Spotting Hybridisation Scanning Image analysis software Image Lack of tumoral DNA Deletion Excess of tumoral DNA Amplification		14B CGH Array: hibridación genómica comparada en una micromatriz, que permite detectar variaciones de ploidía (ganancias o pérdidas de segmentos genómicos: duplicaciones, deleciones...) mediante tinción fluorescente diferencial de dos muestras de ADN, una de las cuales es el control, y su hibridación en una micromatriz.
14C Se obtuvieron seis clones de células trisómicas 21 en las que se había integrado el transgén que codifica rtTA en un cromosoma 19 y pTRE3G- <i>XIST</i> en un cromosoma 21; se comprobó que este último se cubría de ARN de <i>XIST</i> (<i>XIST</i> "paint") en muchas células tras la inducción de la expresión de pTRE3G- <i>XIST</i> por dox.		
14D Cariotipo de los clones estudiados, obtenido mediante tinción Giemsa. Se confirmó que todos estaban integrados por células XY y trisómicas 21 (flecha).		
14E CGH Array de uno de los clones a estudio (clon 3; Ch1), comparado con células XY no trisómicas (Ch2), que confirma el exceso de las secuencias del cromosoma 21 (un incremento de $3/2 = 1,5$ veces) y de las de <i>XIST</i> (2 veces; las células trisómicas transgénicas tienen un <i>XIST</i> endógeno en el cromosoma X y otro, el transgén, en el 21).		
14F CGH Array de secuencias del cromosoma 21 del clon 3 que confirma la trisomía y demuestra que este cromosoma no ha sufrido deleciones ni duplicaciones.		

Área de Genética

Departamento de Biología Aplicada

Universidad Miguel Hernández

Grado en Biotecnología

Curso 2014-15

Hoja de respuestas a la serie 8 de problemas

Apellidos:	Nombre:	Foto
15A Se visualizan experimentos de FISH de ARN en células con trisomía 21 con una inserción del transgén pTRE3G-XIST. Se comprueba que la inducción del transgén con doxiciclina inhibe la transcripción de los genes <i>USP25</i> , <i>CXADR</i> , <i>ITSN1</i> y <i>COL18A1</i> , que están situados en el cromosoma 21 a diferentes distancias de <i>DYRK1A</i> , el sitio de inserción de pTRE3G-XIST.		
15B Secuenciación semiautomatizada mediante detección fluorescente (método de Sanger).		
15C Se amplificaron mediante RT-PCR los transcritos de cuatro genes polimórficos del cromosoma 21 en células con trisomía 21 portadoras de una inserción del transgén pTRE3G-XIST. El ARN fue retrotranscrito y el ADNc fue secuenciado en un secuenciador de primera generación. Se comprobó que los electroferogramas así obtenidos eran distintos en muestras obtenidas a partir de células tratadas o no con doxiciclina. Se somborean en la figura estas diferencias, que corresponden a la presencia de picos dobles.		
15D Los picos dobles corresponden a los polimorfismos de un solo nucleótido entre los alelos de un determinado gen en cada uno de los tres cromosomas 21 de las células trisómicas. La presencia de dos o tres alelos en una misma muestra de ARN se manifiesta en la visualización de dos picos superpuestos, cada uno de los cuales se corresponde con la presencia de un nucleótido distinto en la misma posición. Por ejemplo, <i>ADAMTS1</i> pasa de manifestar T, T y A sin dox a T y T con dox (véase la posición sombreada en 9b).		
15E Se representan dos SNP en cada uno de los genes <i>HSPA13</i> , <i>ADAMTS1</i> , <i>TIAM1</i> y <i>ETS2</i> del cromosoma 21 (aparecen los tres cromosomas 21 de las células a estudio). Las flechas (↓) indican la disminución de la presencia de algunos de los alelos de estos SNP en el ARN de tres de los clones obtenidos (1, 2 y 3 en la figura) como consecuencia de la represión del correspondiente cromosoma 21 por el transgén pTRE3G-XIST.		
16A Resultados de un análisis de micromatrices de todos los genes humanos en el que se demuestra que en tres de los clones trisómicos 21 a estudio, la inducción del transgén pTRE3G-XIST por doxiciclina causa la represión de los genes de uno de los tres cromosomas 21. Los niveles de expresión de los genes de los cromosomas 1-20, 22, X e Y no son modificados por doxiciclina en los clones a estudio; los del cromosoma 21, sin embargo, se reducen en presencia de doxiciclina de tal modo que la relación entre los niveles de expresión dox/no dox en los clones trisómicos es similar a la que muestran células disómicas/trisómicas.		
16B Resultados de un análisis de micromatrices de casi todos los genes del cromosoma 21. Se comparan los niveles de células disómicas y trisómicas, cuyo cociente es similar al de las células del clon 3 (trisómicas 21 con un transgén pTRE3G-XIST en uno de los cromosomas 21), en presencia y ausencia de dox. Se confirma que <i>XIST</i> corrige a nivel de expresión génica la trisomía 21.		
16C Demostración de que la doxiciclina incrementa la metilación de casi todos los genes del cromosoma 21 (pero no en los del 22 o el X) de los clones 1 y 2. La doxiciclina no modifica los niveles de metilación de los cromosomas 21, 22 y X de la línea parental.		
16D Validación mediante qRT-PCR (retrotranscripción seguida de PCR cuantitativa) de los resultados del análisis de micromatrices de la Figura 10a. Se analizaron los 10 genes del cromosoma 21 que se indican en el eje de abscisas, confirmándose que en todos los casos su expresión en presencia de doxiciclina es menor que en su ausencia.		

Área de Genética

Departamento de Biología Aplicada

Universidad Miguel Hernández

Grado en Biotecnología

Curso 2014-15

Hoja de respuestas a la serie 9 de problemas

Apellidos:	Nombre:	Foto
17A No es compatible con el modo de herencia autosómico dominante, ya que se observan varios casos de hermanos enfermos cuyos padres y madres no manifiestan la enfermedad.		
17B Sí es compatible con el modo de herencia autosómico recesivo, ya que los casos mencionados en 17A pueden explicarse por la heterocigosis del padre y la madre de los enfermos.		
17C No es compatible con el modo de herencia ligado al sexo dominante, ya que se observan varios casos de hermanos enfermos (de ambos sexos), cuyos padres y madres no manifiestan la enfermedad.		
17D No es compatible con el modo de herencia ligado al sexo recesivo, ya que se observan varios casos de hermanos enfermos (de ambos sexos), cuyos padres y madres no manifiestan la enfermedad.		
17E C526T y G975A: sustitución de la citosina 526 por timina y de la guanina 975 por adenina (la numeración corresponde al ADNc de <i>PNKP</i>), que causan sustituciones de la leucina 176 por fenilalanina (L176F) y del ácido glutámico 326 por lisina (E326K). g.5646_5662del: delección de los nucleótidos 5646 a 5662 de un intrón del gen <i>PNKP</i> . T424FfsX48: desfase que causa el reemplazo de 47 aminoácidos (desde la treonina 424, que es sustituida por fenilalanina) e introduce a continuación un codón de terminación prematura.		
17F Es un “western blot” de la proteína PNKP (visualizada con un anticuerpo), cuya concentración es mucho menor en las células de los homocigotos recesivos enfermos que en las de sus parientes sanos. Se re-presentan, de izquierda a derecha, los individuos VI:3 y VI:1 de la familia 3 y II:1, II:4, I:1 y II:3 de la familia 7.		
17G Se visualizan en un gel los productos de amplificaciones de RT-PCR realizadas a partir de ARNm de dos individuos enfermos (izquierda) y dos sanos (derecha) de la familia 7. La banda podría corresponder a la amplificación de ADN genómico contaminante.		
18A En la de Oxford Nanopore Technologies, que emplea nanoporos de hemolisina (0:13 de la animación A5) con un sensor de ciclodextrina (0:58).		
18B En la de Pacific Biosciences. Emplea nucleótidos hexafosfatados con un fluoróforo fosfoligado (1:03 de la animación A4) para la síntesis individual de moléculas de ADN (1:27), que es llevada a cabo por una polimerasa de ADN inmovilizada en una guía de onda de modo cero (1:48).		
18C En la del Ion Proton de Life Technologies. Se basa en la detección por un semiconductor de los protones que se liberan al formarse un puente fosfodiéster (2:55 de la animación A2). Según su fabricante, esta tecnología supera a las basadas en la detección de emisiones fluorescentes ya que la reacción de síntesis no debe ser cíclicamente interrumpida y reiniciada y porque es menos proclive a errores de lectura.		
18D En las del Roche 454 (2:00 de la animación A3) y el Ion Proton de Life Technologies. Cada microesfera está asociada a un solo molde y un solo tipo de producto de amplificación.		
18E En la del Roche 454 (3:10 de la animación A3). Participan en el proceso una polimerasa de ADN, una sulfurilasa, una luciferasa y una apirasa.		
18F En la de Illumina (HiSeq; 2:10 de la animación A1). El extremo 3’ de los nucleótidos libres en la mezcla de reacción está covalentemente unido a un fluoróforo; tras la incorporación de uno de estos nucleótidos a la cadena en síntesis, se requerirá el desbloqueo de su extremo 3’ para permitir la incorporación del siguiente.		
18G En la de Illumina (HiSeq; 0:50 de la animación A1). Consiste en la síntesis de ADN mediante PCR en base a la complementariedad entre dos tipos de oligonucleótidos inmovilizados y los acopladores que han sido incorporados a los extremos de los fragmentos del genoma a estudio. El extremo 3’ de cada molécula recién sintetizada puede colisionar con un oligonucleótido inmovilizado cercano y unirse a él por complementariedad, permitiendo la síntesis de ADN que se denomina PCR puente.		

Área de Genética

Departamento de Biología Aplicada

Universidad Miguel Hernández

Grado en Biotecnología

Curso 2014-15

Hoja de respuestas a la serie 10 de problemas

Apellidos:			Nombre:		Foto
19A Sí. GenBank Feature Extractor.					
19B 113	19C 20	19D 77	19E BgIII y HincII	19F TCT (UCU)	
19G 5'-ATGGATTATCTGCTCTTCGC-3'; su longitud es de 21 nt, su Tm básica es 50°C, no forma horquillas por apareamiento intracatenario ni autodimeriza, por lo que es adecuado como cebador.					
19H 5'-TCACACATCTGCCCAATTGCA-3'; su longitud es de 21 nt, su Tm básica es 52°C, no forma horquillas por apareamiento intracatenario pero puede autodimerizar, por lo que no es adecuado como cebador.					
5'-TCACACATCTGCCCAATTGCA-3' 					

Origen de los problemas

Todos los problemas de este libro son originales del autor, con las excepciones que a continuación se indican.

Curso 2011-12

- Ejemplos 1 y 2.- Versión modificada de los problemas 2 y 1, respectivamente, de la asignatura de Genética (1980-81) de la licenciatura en Biología de la Universidad de Murcia.
- 3.- Versión modificada del problema 5 de la asignatura de Genética (1980-81) de la licenciatura en Biología de la Universidad de Murcia, que también se utilizó en la de Genética (1990-91) de la licenciatura en Biología de la Universidad de Alicante.
- 4.- Versión modificada del problema 3 de la asignatura de Genética (1980-81) de la licenciatura en Biología de la Universidad de Murcia, que también se utilizó en la de Genética (1992-93) de la licenciatura en Biología de la Universidad de Alicante.
- 5.- Versión modificada de los problemas 218 y 216 de la asignatura de Genética (1995-96) de la licenciatura en Biología de la Universidad de Valencia (depositado en la página web de la [Sociedad Española de Genética](#)).
- 10.- Versión modificada de un problema de Griffiths *et al.* (2000) *An Introduction to Genetic Analysis*. 7th edition (se presenta resuelto por Diane K. Lavett en <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK21785/>).
- 17.- Versión modificada del problema 9.7 (página 249; aparece resuelto en la página 775) de Russell (2002) *iGenetics*. El planteamiento de este problema se recoge en la figura 4.14 (página 117) de Brown (2007) *Genomes 3*.
- 20.- Versión modificada del problema 10.34 (página 293) de Russell (2010) *iGenetics, A molecular Approach*. 3rd edition.
- 21.- Versión modificada del problema 10.42 (página 294) de Russell (2010) *iGenetics, A molecular Approach*. 3rd edition.
- 27.- Versión modificada del problema 10.25 (página 292) de Russell (2010) *iGenetics, A molecular Approach*. 3rd edition.
- 28.- Original de José Luis Micol Molina, en base a resultados publicados en [Rossi *et al.* \(2005\)](#).
- 30.- Original de José Luis Micol Molina, en base a resultados publicados en [Marioni *et al.* \(2008\)](#).

Curso 2012-13

- 1.- Versión modificada de los problemas 2.15, 2.17, 2.19, 2.27 y 2.28 (páginas 33 y 34; resueltos en las páginas 742 y 743) de Russell (2010) *iGenetics, A molecular Approach*. 3rd edition.
- 12.- Versión modificada del problema 12 de <http://www.columbia.edu/cu/biology/courses/w3031/Extra%20problems/practice2.html>.

Curso 2013-14

- 6.- Original de José Luis Micol Molina, en base a las imágenes y el texto de Bruschi y Gjuracic (2002). Yeast Artificial Chromosomes. Encyclopedia of Life Sciences. Macmillan. http://web.sls.hw.ac.uk/teaching/Derek_J/mol2_1/further_reading/Molecular%20Biology/files/YACs.pdf
- 9 y 10.- Originales de José Luis Micol Molina, en base a las imágenes y el texto de <http://cshprotocols.cshlp.org/content/2009/9/pdb.prot5291.full> y <http://www.readcube.com/articles/10.1038/nprot.2008.70?tab=summary>
- 12.- Modificado por José Luis Micol Molina, a partir de las imágenes y el texto de <http://www.bio.utk.edu/humangenetics/MolecMappingProbs16Oct02.html>
- 13.- Modificado por José Luis Micol Molina, a partir de las imágenes y el texto de http://depts.washington.edu/genetics/courses/genet371b-aut99/problems/sample2_key.html
- 14.- Modificado por José Luis Micol Molina, a partir de las imágenes y el texto de http://depts.washington.edu/genetics/courses/genet371b-aut99/problems/sample2_key.html
- 15.- Modificado por José Luis Micol Molina, a partir de las imágenes y el texto de http://ibgwww.colorado.edu/genotyping_lab/IBG-Hvar2.html
- 16.- Modificado por José Luis Micol Molina, a partir de las imágenes y el texto de http://www.mun.ca/biology/scarr/PCR_based_ASO_SNP_test.html, http://www.mun.ca/biology/scarr/ASO_test_for_CF2.html y http://www.mun.ca/biology/scarr/SSO_test_for_scallop_forensics.html

18.- Modificado por José Luis Micol Molina, a partir del texto de <http://www.cbs.dtu.dk/dtu/course/cookbooks/hnielsen/multali.html>

Curso 2014-15

7 y 8.- Originales de José Luis Micol Molina, en base a las imágenes y el texto de [Karimi *et al.* \(2013\)](#).

9 y 10.- Originales de José Luis Micol Molina, en base a las imágenes y el texto de [Prosser *et al.* \(2011\)](#).

11 a 16.- Originales de José Luis Micol Molina, en base a las imágenes y el texto de [Jiang *et al.* \(2013\)](#).

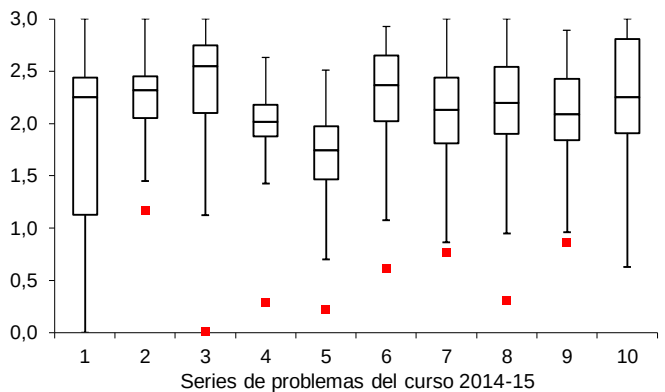
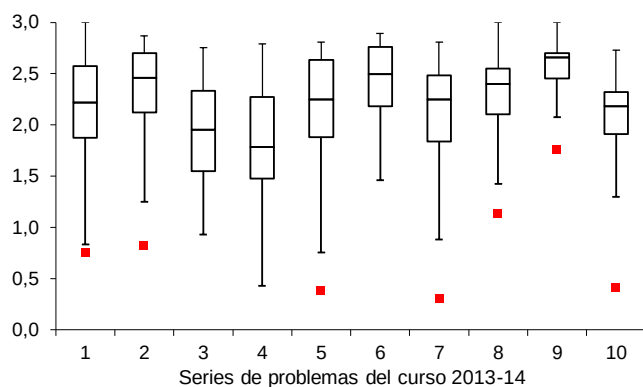
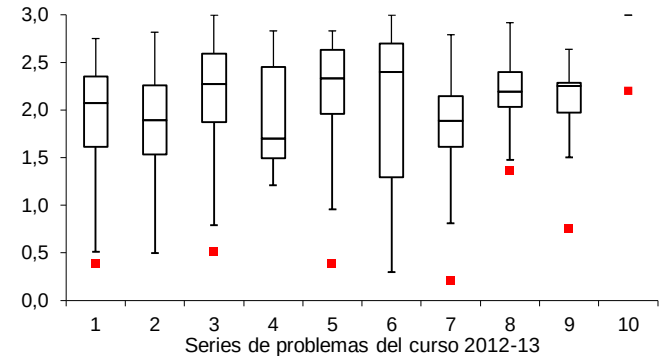
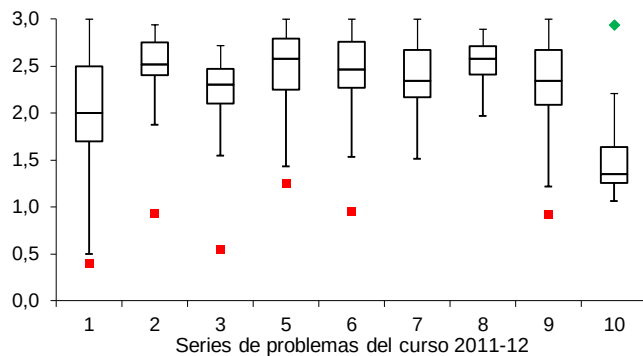
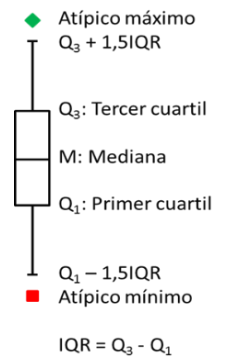
17.- Original de José Luis Micol Molina, en base a las imágenes y el texto de [Shen *et al.* \(2010\)](#).

20.- Original de José Luis Micol Molina, en base a las imágenes y el texto de [Vaz *et al.* \(2010\)](#).

Distribución de las calificaciones de las series

Se representa más abajo la distribución de las calificaciones (de 0 a 3 puntos; en ordenadas) de las series de problemas de los cursos 2011-12 a 2014-15 mediante diagramas de cajas y bigotes, en los que los bigotes, las líneas que delimitan cada caja y la que la subdivide corresponden a los valores que se indican a la derecha.

Estos diagramas permiten estimar la dificultad relativa de cada serie. La décima del curso 2011-12 fue muy distinta de las restantes porque ese año planteé 30 problemas pero establecí una calificación máxima de 20 puntos; muchos de los alumnos que alcanzaron esa puntuación acumulada en las primeras 8 o 9 series no presentaron la hoja de respuestas de la décima. También es distinta la serie décima del curso 2012-13, en la que concedí 3 puntos a casi todos mis alumnos.



Archivos complementarios

Diapositivas complementarias

Para resolver el problema 5IG2014-15.pptx

Problemas resueltos de IG (2013-14) diapositivas complementarias.pptx

Problemas resueltos de IG (2014-15) diapositivas complementarias.pptx

Problema8IG2012-13.txt[illegible]

Problema10IG2012-13.txt

MDAYALPTYFPLAYSELQFLASRRAAVAAAAATVLPGSPCINQHHTPDVSSSVTVPSIIPTGGTSDSIKTSIQPQICNENTL
LGNAGHQHNHQPHVHNINVTGQPHDFHPAYRIPGYMEQLYSLQRTNSASSFHDYPVNCASAFHLAGLGLGSADFLGSRGLS
SLGELHNAAVAAAAAGSLASTDFHFSVDGNRRLGSPRPPGGSIRASISRKRALSSSPYSDSFDINSMIRFSPNSLATIMNGS
RGSSAASGSYGHISATALNPMSHVHSTRLQQIQAHLLRASAGLLNPMTQQQAASGFSIGHMPTSASLRVNDVHPNLSDSHI
QITTSPTVTKDV SQVPAAAFSLKNLDDAREKKGPFKDVVPEQPSSTSGGVAQVEADSASSQLSDRCYNNVVNNITGIPGDVK
VNSRLDEYINCGSISIPSNEYDCANADTTDIKDEPGDFIETNCHWRSCTIEFITQDELVKHINNNDHIQTNKKAFVCRWEDCT
RGEKPFKAQYMLVVMRRHTGEKPHKCTFEGCFKAYSRLNLKTHLRSHTEKPYTCEYPGCSKAFSNASDRAKHQNRTHSN
EKPYICKAPGCTKRYTDPSSLRKHVKTVHGAEFYANKKKHGLPLNDANSRLQQNNSRHNLQEHNIDSSPCESEDHGLKMLGT
SSPSIKSESDISSNHHLVNGVRASDSLTYSPDDLAEENLNLDDGWNCDDDVDVADLPIVLRAMVNIIGNNASASTIGGSVL
ARQRFGRGLQTKGINSSTIMLCNIPESNRFTFGISELNQRITELKMEPGTDAEIKIPKLPNTTIGGYTEDPLQNQTSFRNTVS
NKQGTVSGSIQGGQFRD SQNSTASTYYGSMQSRSSQSSQVSSIPTMRPNPSCNSTASFYDPISPGCSRSSQMSNGANCNS
FTSTSGLPVLNKE SNKSLNACINKPNIGVQGVGIYNSSLPPPPSSHLIATNLKRLQRKDSEYHNFTSGRFSVPSPYMHSLHIK
NNKPVGENEFDKAIASNARRQTD PVPNINLDPDPLTNISRFSTPHSFIDINVGKTNNIASSINKDNLRLKDLFTVSIKADMAMTS
DQHPNERINLDEVEELILPDEMLQYLNVLKDDTNHLEKHEQAVPVGSNVSETIASNHYREQSNIIYYTNKQILTPPSNVDIQP
NTHKFTVQDKFAMTAVGGSFSQRELSTLAVPNEHGHAKECSFHHQSQKYMNTDIGSKQSQLPISAHQRQTEKSNYNQIIDSS
MTSLPELNVDSIYPRNETENIFKVHGDHDNEIOCGIISOSOMSPSTNLNNDGQFSTVNMQAPITTSKLFPPPEPOKIVCDTOAS

NTSVMHLDTYQRTLEYVQSCQNWMETNNTSTNQIQSLPGMPVNNTLFPDVSSSTHPYHGTMVINDMTTSLTSLLEENRYLQ
MMQ

Problema18IG2013-14.txt

>HV1A2

TEKLWVTVYYGVPVWKEATTTLFCASDARAYDTEVHNVWATHACVPTDPNPQEVVLGNVTENFNMWKNMVEQMQEDIISLW
DQSLKPCVKLTPLCVTLNCTDLGKATNTNSSNWKEEIKGEIKNCSFNITTSIRDKIQKENALFRNLDVVPIDNASTTTNYTN
YRLIHCNRSVITQACPKVSFEPIPIHYCTPAGFAILKCNKTFNGKGPCNTVSTVQCTHGIRPIVSTQLLNGLSLAEEEVVI
RSDNFTNNAKTIIVQLNESVAINCTRPNNNTRKSIYIGPGRAFHTTGRIIGDIRKAHCNISRAQWNNTLEQIVKKLREQFGN
NKTIVFNQSSGGDPEIVMHSFNCRGGEFFYCNTTQLFNNTWRLNHTEGTKGNDTIILPCRIKQIINMWQEVGKAMYAPPIGGQ
ISCSSNITGLLLTRDGGTNVNDTEVFRPGGGDMRDNRSELYKYKVIKIEPIGVAPTAKARRVVQREKR

>HV1B1

TEKLWVTVYYGVPVWKEATTTLFCASDAKAYDTEVHNVWATHACVPTDPNPQEVVLGNVTENFNMWKNMVEQMHEIDIISLW
DQSLKPCVKLTPLCVSLKCTDLKNDTNTNSSSGRMIMEKGEIKNCSFNISTSIIRGKVQKEYAFFYKLDIIPIDNDTTSYTLT
SCNTSVITQACPKVSFEPIPIHYCAPAGFAILKCNKTFNGTGPCNTVSTVQCTHGIRPVVSTQLLNGLSLAEEEVVIRSAN
FTDNAKTIIVQLNQSVINCTRPNNNTRKSIIRIQRGPRAFVTIGKIGNMRQAHCNISRAKWNNTLKQIDSKLREQFGNNKT
IIFKQSSGGDPEIVTHSFNCGGEFFYCNTTQLFNSTWFNSTWSTKGSNNTEGSDTITLPCRIKQIINMWQEVGKAMYAPPIS
GQIRCSSNITGLLLTRDGGNSNNESEIFRPGGGDMRDNRSELYKYKVVKIEPIGVAPTAKARRVVQREKR

>HV1BR

TEKLWVTVYYGVPVWKEATTTLFCASDAKAYDTEVHNVWATHACVPTDPNPQEVVLGNVTENFNMWKNMVEQMHEIDIISLW
DQSLKPCVKLTPLCVSLKCTDLGNATNTNSSNTNSSSGEMMEKGEIKNCSFNISTSIIRGKVQKEYAFFYKLDIIPIDNDTT
SYTLTSCNTSVITQACPKVSFEPIPIHYCAPAGFAILKCNKTFNGTGPCNTVSTVQCTHGIRPVVSTQLLNGLSLAEEEVV
IRSANFTDNAKTIIVQLNQSVINCTRPNNNTRKSIIRIQRGPRAFVTIGKIGNMRQAHCNISRAKWNATLKQIASKLREQF
GNNKTIIFKQSSGGDPEIVTHSFNCGGEFFYCNTTQLFNSTWFNSTWSTEGSNNTGSDTITLPCRIKQFINMWQEVGKAMY
APPISGQIRCSSNITGLLLTRDGGNNNGSEIFRPGGGDMRDNRSELYKYKVVKIEPIGVAPTAKARRVVQREKR

>HV1C4

ANLWVTVYYGVPVWKEATTTLFCASDAKAYDTEAHNVWATHACVPTNPNPQEVVLENTENFNMWKNMVEQMHEIDIISLW
DQSLKPCVKLTPLCVTLNCTDLNNTNTNTTTELSIIVVWEQRGKGEMRNCNCSFNITTSIRDKVQREYALFYKLDVEPIDDNKNT
TNNTKYRLINCENTSVITQACPKVSFEPIPIHYCTPTGFALLKCNCKKFNCTGPCNTVSTVQCTHGIRPVVSTQLLNGLSLAE
EEVIRSENFTNNAKTIIVQLNVSEINCTRPNNHTRKRVTLGPGRVWYTTGEILGNIRQAHCNISRAQWNNTLQQIATTLR
EQFGNKTIAFNQSSGGDPEIVMHSFNCGGEFFYCNTTQLFNSAWNVTSNGTWSVTRKQKDTGDIITLPCRIKQIINRWQVVG
KAMYALPIKGLIRCSSNITGLLLTRDGGGENQTTEIFRPGGGDMRDNRSELYKYKVVKIEPIGVAPTAKARRVVQREKR

>HV1EL

ADNLWVTVYYGVPVWKEATTTLFCASDAKSYTEAHNIWATHACVPTDPNPQEI ALENVTENFNMWKNMVEQMHEIDIISLW
DQSLKPCVKLTPLCVTLNCSDELNRNGTMGNVNTTEEGMKNCNCSFNVTTLVKDKKQVYALFYRLDIVPIDNDSSTNTNYR
LINCNTSAITQACPKVSFEPIPIHYCAPAGFAILKCRDKKFNCTGPCNTVSTVQCTHGIRPVVSTQLLNGLSLAEEEVVI
ENLTNNAKNIIAHLNESVKITCARPYQNTQRTPIGLGQSLYTTRSRSIIGQAHCNISRAQWSKTLQQVARKLGTLLNKTII
KFKPSSGGDPEITTHSFNCGGEFFYCNTSGLFNSTWNI SAWNNITESNNSTNTNITLQCRKQI IKMVAGRKAIYAPPIERN
ILCSSNITGLLLTRDGGINNSTNETFRPGGGDMRDNRSELYKYKVVKIEPIGVAPTRAKARRVVVEREKR

>HV1H3

TEKLWVTVYYGVPVWKEATTTLFCASDAKAYDTEVHNVWATHACVPTDPNPQEVVLGNVTENFNMWKNMVEQMHEIDIISLW
DQSLKPCVKLTPLCVSLKCTDLKNDTNTNSSSGRMIMEKGEIKNCSFNISTSIIRGKVQKEYAFFYKLDIIPIDNDTTSYTLT
SCNTSVITQACPKVSFEPIPIHYCAPAGFAILKCNKTFNGTGPCNTVSTVQCTHGIRPVVSTQLLNGLSLAEEEVVIRSVN
FTDNAKTIIVQLNTSVEINCTRPNNNTRKKIRIQRGPRAFVTIGKIGNMRQAHCNISRAKWNATLKQIASKLREQFGNNKT
IIFKQSSGGDPEIVTHSFNCGGEFFYCNTTQLFNSTWFNSTWSTEGSNNTGSDTITLPCRIKQFINMWQEVGKAMYAPPIS
GQIRCSSNITGLLLTRDGGNNNGSEIFRPGGGDMRDNRSELYKYKVVKIEPIGVAPTAKARRVVQREKR

>HV1JR

LWVTVYYGVPVWKEATTTTLCASDAKAYDTEVHNVWATHACVPTDPNPQEVVLENTEDFNMWKNMVEQMVEDVINLWDQS
LKPCVKLTPLCVTLNCKDVNATNTTSSSEGMMERGEIKNCSFNITKSIRDKVQKEYALFYKLDVVPIDNKNNTKYRLISCNT
SVITQACPKVSFEPIPIHYCAPAGFAILKCNKTFNGKGQCKNVSTVQCTHGIRPVVSTQLLNGLSLAEKVVIRSDNFTDN
AKTIIVQLNESVKINCTRPSNNTRKSIHIGPGRAFYTTEIGIIGDIRQAHCNISRAQWNNTLKQIVEKLREQFNNKTIVFTHS
SGGDPEIVMHSFNCGGEFFYCNTTQLFNSTWNTDEKSSGTEGNDTIILPCRIKQIINMWQEVGKAMYAPPKQIRCSSNIT
GLLLTRDGGKNESEIEIFRPGGGDMRDNRSELYKYKVVKIEPIGVAPTAKARRVVQREKR

>HV1KB

AEQLWVTVYYGVPVWKEATTTLFCASDAKAYDTEAHNVWATHACVPTDPNPQEVVLGNVTENFNMWKNMVEQMHEIDIISLW
DQSLKPCVKLTPLCVTLHCTDLRNTTNNNSSIEEKMKGEIKNCSFNVTNIRDKVQKEYALFYKLDVVPIDNDNNSTNTCYR
LISCNTSVITQACPKVSFEPIPIHYCTPAGFALLKCNKTFNGTGPCNVSTVQCTHGIRPVVSTQLLNGLSLAEEGVVIRS
ENFTDNVKTIIIVQLNETVKINCIRPNKTRKRVTMGPGRVYTTGEIIGDIRQAHCNISRAEWNKLEQIANKLRKQFENKT
IVFNQSSGGDPEIVMHNFNCGGEFFYCDSSQLFNSTHLSNGTWWNGTGPNITLPCRIKQIVNMWQEVGKAMYAPPIRGQIR
CSSNITGLLLTRDGGNTQNNNTNNSIEIFRPGGGDMRDNRSELYKYKVVKIEPIGVAPTRAKARRVVQREKR

>HV1MN

TEKLWVTVYYGVPVWKEATTTLFCASDAKAYDTEVHNVWATQACVPTDPNPQEVVLGNVTENFNMWKNMVEQMHEIDIISLW
DQSLKPCVKLTPLCVTLNCTDLRNTTNTNNTANNNNSSEGTIKGGEMKNCSFNITTSIRDKMKEYALLYKLDIVSIDNDS
TSYRLISCNTSVITQACPKISFEPIPIHYCAPAGFAILKCNCKKFSGKGSCKNVSTVQCTHGIRPVVSTQLLNGLSLAEEEV
VIRSENFTDNAKTIIVHLNESVQINCTRPNYNKRRIHIGPGRAFYTTKNIIGTIRQAHCNISRAKWNNTLRQIVSKLKEQF

KNKTIVFNQSSGGDPEIVMHSFNCGGEFFYCNTSPLFNSTWNGNNTWNNTTGSNNNITLQCKIKQIINMWQEVGKAMYAPPI
EGQIRCSSNITGLLLLTRDGGKDTDTNDTEIFRPGGGDMRDNRSELYKYKVVTIEPIGVAPTAKRRVVQREKR
>HV1RH
AEDLWVTVYYGVPVWKEATTTLFCASEAKAYKTEVHNWVWAKHACVPTDPNPQEVLENVTENFNMWKNMVEQMHEDIISLW
DQSLKPCVKLTPLCVTLNCTDANLNGTNVTSSSGGTMENGEIKNCSFQVTTSSRDKTQKKYALFYKLDVVP I E K G N I S P K N
NTSNNTSYGNYTLIHCNSSVITQACPKVSFEPIPIHYCTPAGFAILKCNDKKFNGTGPCKNVSTVQCTHGIRPVVSTQLLLLN
GSLAEVEEVIRSENFTDNVKTIIIVQLNASVQINCTRPNNNTRKSITKGPRVIYATGQIIIGDIRKAHCNLSRAQWNNTLKQV
VTKLREQFDNKTIIVFTSSSGDPEIVLHSFNCGGEFFYCNTTQLFNSTWNSTEGSNNTGGNDTITLPCRIKQIVNMWQEVGK
AMYAPPISGQIKCISNITGLLLLTRDGGEDTTNTTEIFRLGGGNMRDNNRSELYKYKVVRIEPIGVAPTRAKRRVVQREKR
>HV1S1
VEKLWVTVYYGVPVWKEATTTLFCASDAKAYDTEVHNWVWATHACVPTDPNPQEVLENVTENFNMWKNMVEQMHEDIISLW
DQSLKPCVKLTPLCVTLHCTNLKNATNTKSSNWKEMDRGEIKNCSFKVTTSSIRNKMQKEYALFYKLDVVPIDNDNTSYKLIN
CNTSVITQACPKVSFEPIPIHYCAPAGFAILKCNDKKFNGSGPCTNVSTVQCTHGIRPVVSTQLLLLNGLAEVEEVIRSENFT
DNAKTIIIVQLKESVEINCTRPNNNTRKSITIGPGRAFYATGDIIGDIRQAHCNISGEKWNNTLKQIVTKLQAQFGNKTIIV
KQSSGGDPEIVMHSFNCGGEFFYCNTSPLFNSTWNNTIGPNNNTNGTITLPCRIKQIINRWQEVGKAMYAPPPIRGQIRCSSNI
TGLLLTRDGGKEISNTTEIFRPGGGDMRDNRSELYKYKVVKIEPIGVAPTAKRRVVQREKR
>HV1W1
VEQLWVTVYYGVPVWKEATTTLFCASDAKAYSTEAHKVVWATHACVPTNPNPQEVLENVTENFNMWKNMVEQMHEDIISLW
DQSLKPCVKLTPLCVTLNCTDKNITDWNKTIIIGGGEVKNCSFNITTSIRDKVHKEYALFYKLDVVP I K S N N D S S T Y T R Y L
IHCNTSVITQACSKVSFEPIPIHYCAPAGFAILKCNDKKFNGTGPCNTNVSTVQCTHGIRPVVSTQLLLLNGLAEVEEVIRSE
NFTDNAKTIIIVHLNESVEINCTRPNNNVRRIIHIIGPGRAYTGEIRGNIRQAHCNISRAKWNNTLKQIVEKLREQFKNKTI
VFHNSSGGDPEIVTHSFNCGGEFFYCDSTQLFNSTWNVTGISTEGNNNTEENGDTITLPCRIKQIINMWQGVGKAMYAPPPIG
GQIRCSSNITGLLLLTRDGGNSSSREEIFRPGGGNMRDNNRSELYKYKVVKIEPIGVAPTAKRRVVQREKR
>HV1Z2
DNLWVTVYYGVPVWKEATTTLFCASDAKSYKTEAHNIWATHACVPTDPNPQEIENVTENFNMWRNNMVEQMHEDIISLWD
QSLKPCVKLTPLCVTLNCTIDEVMENVTMKNNNVTEEIRMKNCSFNITTVVRDKTKQVHALFYRLDIVPIDNDNSTNSTNYRL
INCNTSAITQACPKVSFEPIPIHYCAPAGFAILKCRDKRFNGTGPCNTNVSTVQCTHGIRPVVSTQLLLLNGLAEVEEIIIRSE
NLTNNAKIIIVQLNESVAINCTRPYRNIRQRTSIGLGQALYTTKTRSIIGQAYCNISKNEWNKTLOQVAIKLGNLLNKTTII
FKPSSGGDPEIITHSFNCGGEFFYCNTSGLFNSTWDISKSEWANSTESDDKPITLQCRICKQIINMWQGVGKAMYAPPPIEGQI
NCSSNITGLLLLTRDGGTNSSNETFRPGGGDMRDNRSELYKYKVVKIEPIGVAPTAKRRVVVEREKR
>HV1Z8
AEDLWVTVYYGVPVWKEATTTLFCASDAKSYEPEAHNIWATHACVPTDPNPRIEMENVVTENFNMWKNMVEQMHEDIISLW
DQNLKPCVKLTPLCVTLNCTNAGGNKTTNGNNTTNQEEQMMKEMKNCNCSFNITTVISDKKKQVHALFYRLDVVPIDDDNSA
NTSNTNYTNRYLINCNTSAITQACPKVTFEPIPIHYCAPAGFAILKCKDKKFNGTGPCKKVSTVQCTHGIRPVVSTQLLLLN
SLAEVEEIIIRSENLTNNVKTIIIVHLNESVEINCTRPDNKITRQSTPIGLGQALYTTIRKGDIRQAYCNISAAAWNKTLOQVA
KKLGDLNQTIIIFKPAPAGDPEIITHSFNCGGEFFYCNTSRLFNSTWNSSTWNNDTLNSEGTIKLPCKRIKQIINMWQGVGK
AMYAPPPIEGLIKCTSNTITGLLLLTRDGGVNNSTNETFRPGGGDMKDNWRNELYKYKVVRIEPIGVAPTAKRRVVVEREKR
>HV2BE
YCSQYVTVFYGIPAWKNASIPLFCATKNRDTWGTIQCLPDNDYQEIILNVTEAFDAWNNTVTEQAVEDVWHLFETS IKPCV
KLTPLCVAMNCSRVOGNTTTPNPRTSSTTSRPTSAASIINETSNCIENNTCAGLGYEEMMQCEFNMGLEQDKKRYKDT
WYLEDVVCNDNTTAGTCYMRHCNTSIIKESCDKHYWDAMRFYCAPPGFALLRCNDNTNYSGFEPKCTKVVAASCTRMETQTS
TWFGFNGTRAENRTYIYWHGRDNRTIIISLNKYNLTMCRKRPNGKTVLPITLMSGVLVHFSQPINTRPRQAWCFRGGRWREAM
QEVKQTLVQHPRYKGINDTGKINF TKPGAGSDPEVAFMWTNCRGEFLYCNMTWFLNWVEDKNQTRRNYCHIKQIINTWHKVG
KNVYLPREGELACESTVTSIIANIDIDKNRTHNTITFSAEVAELRLELDYKLEITPIGFAPTDQRR
>HV2CA
YCRQQYVTVFYGIPAWKNASIPLFCATKNRDTWGTIQCLPDNDYQEIPLNVTEAFDAWDNTITEQAIEDVWNLFETS IKPC
VKLTPLCVAMKNISTSDTTMIRTTTPSTAKEAPISDNSPCIRTNNCSGLEEEKIVKCHFNMTGLERDKKKQYNETWYSSDV
VCDNSTDQTTNETTCYMNHCNTSVITESCDKHYWDAMRFYCAPPGFALLRCNDTKYSGFAPNCSKVFASTCTRMETQTS
WFGFNGTRAENRTYIYWHGKDNRTIIISLNKHYNLSMYCRRPGNKTVVPITLMSGQRFHSPRIINKRPRQAWCFKGNWTEAM
QEVKQTLAEHPRYKGTKNITDITFKAPERGSDEPVTYMWNSNCRGEFFYCNTWFLNWVENKPNNTTKRNYAPCHIRQIINTWH
KVGKNVYLPREGELTCNSTVTSIIANIDIDERDNQTTNITFSADVAELRLELDYKLEITPIGFAPTSQKR
>HV2D1
YCKQYVTVFYGIPAWRNASIPLFCATKNRDTWGTIQCLPDNDYQEIITLNVTEAFDAWDNTVTEQAIEDVWRLFETS IKPCV
KLTPLCVAMNCNISTGTTATPSPPNITIIIDENSTCIGDNNCTGLGKEEVECEFNMTGLEQDKKRYNDAWYSRDVVCCKTN
GTGTCYMRHCNTSVIKESCDKHYWDAMRFYCAPPGFALLRCNDNTNYSGFEPKCSKVVAASCTRMETQTSWFGFNGTRA
ENRTYIYWHGKDNRTIIISLNKYNLTMHCKRPGNKTVVPITLMSGRRFHSRPVYNKKPGQAWCFQGNWIEAMREVKQTLAKH
PRYGGTNDTGKINF TKPGIGSDPEVTYMWNTNCRGEFLYCNMTWFLNWVENKTNQTHGNYAPCHIRQIINTWHKVGKNVYLP
REGELTCNSTVTSIIANIDSDGNQTNITFSAEVAELRLELDYKLEITPIGFAPTKEKRYSSAPVRNKR
>HV2G1
YCTQYVTVFYGVPVWRNASIPLFCATKNRDTWGTIQCKPDNDYQEIITLNVTEAFDAWDNTVTEQAVEDVWSLFETS IKPCV
KLTPLCVAMSCNSTTNNNTTTTGSTTGMSIINETSPSYSDNCTGLGKEEIVNCQFYMTGLERDKKKQYNETWYSKDVVCSNN
TKDGKNRCYMNHCNTSVITESCDKHYWDAIKFRYCAPPGYALLRCNDNTNYSGFEPKCSKVFASTCTRMETQTSWFGFNGT
RAENRTYIYWHGRDNRTIIISLNKYNLSIHCKRPGNKTVVPITLMSGVLVHFSQPINTRPRQAWCFKGNWTEAMQEVKQTLI
KHPRYGTNDTKNINF TKPGRGSDPEVAYMWNTNCRGEFLYCNMTWFLNWVENRPNQTQHNYAPCHIRQIINTWHKVGKNVYLP
PPREGQLTCNSTVTSIIANIDVNSNQTNITFSAEVAELRLELDYKLEITPIGFAPTREKR
>HV2NZ

HCKQFVTVFYGIPAWRNASIPLFCATKNRDTWGTIQCLPDNDYQEITLNVTEAFDAWNNTVTEQAVEDVWNLFETS IKPCV
 KLTPLCVAMNCTRNMTTWTGRDTONITIINDTSHARADNCTGLKEEEMIDCQFSMTGLERDKRKQYTEAWYSKDVVCDNNT
 SSQSKCYMNHCONTSVITESCDKHYWDAMRFYCAPPGFALLRCNDNTNYSGFAPNCSKVVAATCTRMETQTSTWFGFNGTRA
 ENRTYIYWHGKDNRTIISLNNFYNLTMHCKRPGNKTVPITFMSGFKFHSQPVINKKPRQAWCWFEQWKEAMQEVKETLAK
 HPRYKGNRSRTENIKFKAPGRGSDPEVTYMWNTNCRGESLYCNMTWFLNWVENRTGQKQRNYAPCRIRQIINTWHRVGNLYL
 PPREGELTCNSTVTSIIANIDAGDQTNITFSAEAAELRLELGDYKLVEITPIGFAPTSVKR

>HV2RO

YCTQYVTVFYGVPTWKNATIPLFCATNRNRTWGTIQCLPDNDYQEITLNVTEAFDAWNNTVTEQAIEDVWHLFETS IKPCV
 KLTPLCVAMKCSSTESSTGNNTTSKSTSTTTTTPTDQEIEISETPCARADNCSGLGEEETINCQFNMTGLERDKKKQYNET
 WYSKDVVCEETNNSTNQTCYMNHCNTSVITESCDKHYWDAIRFRYCAPPGYALLRCNDNTNYSGFAPNCSKVVAATCTRMET
 QTSTWFGFNGTRAENRTYIYWHGRDNRTIISLNKYNYLSLHCKRPGNKTVPITLMSGHVFSHYQPINKRPRQAWCWFKGK
 WKDAMQEVKETLAKHPRYRGNTDNRNISFAAPGKGSDEPVAWMWNTNCRGEFLYCNMTWFLNWVENKTHRNYAPCHIKQIINT
 WHKVGKNVYLPREGELSCNSTVTSIIANIDWQNNNQTNITFSAEVAELRLELGDYKLVEITPIGFAPTKEKR

>HV2S2

YCVQYVTVFYGVPVWRNASIPLFCATKNRDTWGTIQCLPDNDYQEIALNVTEAFDAWNNTVTEQAVEDVWSLFETS IKPCV
 KLTPLCVAMRCNSTTAKNTTSTPTTTTTANTTIGENSSCIRTNDCTGLGEEEMVDCQFNMTGLERDKKKLYNETWYSKDVVC
 ESKDTKKEKTCYMNHCNTSVITESCDKHYWDMRFYCAPPGFALLRCNDNTNYSGFEPNCSKVVAATCTRMETQTSTWFGF
 NGTRAENRTYIYWHGRDNRTIISLNKFYNLTILCKRPGNKTVPITLMSGLVFHSQPINRRPRQAWCWFKGEWKEAMKEVKL
 TLAKHPRYKGTNDTEKIRFIAPGERSDPEVAWMWNTNCRGEFLYCNMTWFLNWVENRTNQTHNYVPCHIKQIINTWHKVGKN
 VYLPREGQLTCNSTVTSIIANIDGGENQTNITFSAEVAELRLELGDYKLIEVTPIGFAPTSIKR

>HV2SB

YCTKYVTVFYGVPVWKNASIPLFCATKNRDTWGTIQCLPDNDYQEIPLVNTEAFDAWNNTVTEQAVEDVWNLFETS IKPCV
 KLTPLCVTMNCNASTESAVATTSPSGPDMINDTDPCIQLNNCSGLREEDMVECFNMTGLELDKKKQYSETWYSKDVVCESD
 NSTDRKRCYMNHCNTSVITESCDKHYWDAMRFYCAPPGFVLLRCNDNTNYSGFEPNCSKVVAATCTRMETQPSWLGFGNT
 RAENRTYIYWHGRDNRTIISLNKYNYLTILCRPENKTVPITLMSGRRFHSQKIINKKPRQAWCRFKGEWREAMQEVKQTL
 VKHPRYKGTNDTNKINFATAPEKDSDEPVAWMWNTNCRGEFLYCNMTWFLNWVENKTGQHHNYVPCHIEQIINTWHKVGKNVYLP
 PPREGELSCSTVTSIIANIDVDGDNRTNITFSAEVAELRLELGDYKLIEVTPIGFAPTAEKR

>HV2ST

YCVQYVTVFYGVPVWRNASIPLFCATKNRDTWGTIQCLPDNDYQEIALNVTEAFDAWNNTVTEQAVEDVWSLFETS IKPCV
 KLTPLCVAMRCNSTTAKNTTSTPTTTTTANTTIGENSSCIRTNDCTGLGEEEMVDCQFNMTGLERDKKKLYNETWYSKDVVC
 ESNDTKKEKTCYMNHCNTSVITESCDKHYWDMRFYCAPPGFALLRCNDNTNYSGFEPNCSKVVAATCTRMETQTSTWFGF
 NGTRAENRTYIYWHGRDNRTIISLNKFYNLTIVHCKRPGNKTVPITLMSGLVFHSQPINRRPRQAWCWFKGEWKEAMKEVKL
 TLAKHPRYKGTNDTEKIRFIALGERSDPEVAWMWNTNCRGEFLYCNMTWFLNWVENRTNQTHNYVPCHIKQIINTWHKVGKN
 VYLPREGQLTCNSTVTSIIANIDGGENQTNITFSAEVAELRLELGDYKLIEVTPIGFAPTPVKR

>SIVCZ

SELWVTVYYGVPVWHDADPVLFCASDAKAHSTEAHNIWATQACVPTDPSPQEVFLPNVIESFNMWKNMVDQMHEIDIISLWD
 QSLKPCVKLTPLCVTLQCSKANFSQAKNLNTQTSPPLEMKNCSFNVTTELDRDKKKQVYSLFYVEDVWNLGNENNTYRIINC
 NTTAITQACPKTSFEPIPIHYCAPAGFAILKCNDKDFSGKGKCTNVSTVHCTHGKIPVVTQQLINGSLAEGNITVRVENKS
 KNTDVWIVQLVEAVSLNCHRPNGNTRGEVQIGPGMTFYNIENVVDTRSAECKINGTTWNRTVEEVKKALATSSNRATANIT
 LNRASGGDPEVTHHMFNCGGEFFYCNTSQIFTDNITNGIILPCRIRQIVSSWMRVGRGIYAPPIRGNITCNSNITGLLLTS
 DTPVTNNSGNLTFRPTGGNMKDIWRSELYKYKVVRIEPIGVAPTARRHTVARQKDRQKR

>SIVM1

IQYVTVFYGVPWNRNATIPLFCATKNRDTWGTQCLPDNDYSELALNVTESFDAWENTVTEQAIEDVWQLFETS IKPCVKL
 SPLCITMRCNKSETDKWGLTKSSTTTASTTTTTAKSVETRDIIVNETSPCVVHDNCTGLEQEPMISCKFNMTGLKRDKKKEY
 NETWYSADLVCEQGNSTGNESRCYMNHCNTSVIQECCDKDYWDIAIRCRYCAPPGYALLRCNDNTNYSGFMPNCSKVVSSTCTR
 MMETQTSTWFRFNGTRAENRTYIYWHGRDNRTIISLNKHYNLTMKCRRPGNKTVPVPTIMSALVFHSQPVNERPKQAWCRFG
 GNVKEAIKEVKQTIKHPRYTGTNNTDKINLTAPGGGDPEVTFMWNTNCRGEFLYCKMNWFLNWVEDRSLTTQKPKERHKNRY
 VPCHIRQIINTWHKVGKNVYLPREGDLTCNSTVTSIIANINWTDGNQTSITMSAEVAELRLELGDYKLVEITPIGVAPTNDV
 VKRYTTGGTSRNRK

>SIVMK

TQYVTVFYGVPWNRNATIPLFCATKNRDTWGTQCLPDNGDYSELALNVTESFDAWENTVTEQAIEDVWQLFETS IKPCVKL
 SPLCITMRCNKSETDRWGLTKSSTTTITTAAPTSAPVSEKIDMVNETSSCIAQNNCTGLEQEPMISCKFTMTGLKRDKTKEYN
 ETWYSTDLVCEQGNSTDNESRCYMNHCNTSVIQESCDKHYWDIRFRYCAPPGYALLRCNDNTNYSGFMPKCSKVVSSTCTRM
 METQTSTWFGFNGTRAENRTYIYWHGRDNRTIISLNKYNYLTMKCRRPGNKTVPVPTIMSGLVFHSQPLTDRPKQAWCWFGG
 KWKDAIKEVKQTIKHPRYTGTNNTDKINLTAPGGGDPEVTFMWNTNCRGEFLYCKMNWFLNWVEDRDVTTQRPKERHKNRY
 PCHIRQIINTWHKVGKNVYLPREGDLTCNSTVTSIIANIDWTDGNQTSITMSAEVAELRLELGDYKLVEITPIGVAPTNDV
 KRYTTGGTSRNRK

>SIVML

TQYVTVFYGVPWNRNATIPLFCATKNRDTWGTQCLPDNGDYSELALNVTESFDAWENTVTEQAIEDVWQLFETS IKPCVKL
 SPLCITMRCNKSETDRWGLTKSSTTTITTAAPTSAPVSEKIDMVNETSSCIAQNNCTGLEQEPMISCKFNMTGLKRDKTKEYN
 ETWYSTDLVCEQRNSTDNESRCYMNHCNTSVIQESCDKHYWDIRFRYCAPPGYALLRCNDNTNYSGFMPKCSKVVSSTCTRM
 METQTSTWFGFNGTRAENRTYIYWHGRDNRTIISLNKYNYLTMKCRRPGNKTVPVPTIMSELVFHSQPINDRPKQAWCWFGG
 KWKDAIKEVKQTIKHPRYTGTNNTDKINLTAPGGGDPEVTFMWNTNCRGEFLYCKMNWFLNWVEDKDVTQRPKERHKNRY
 PCHIRQIINTWHKVGKNVYLPREGDLTCNSTVTSIIANIDWTDGNQTSITMSAEVAELRLELGDYKLVEITPIGVAPTNDV
 KRYTTGGTSRNRK

Currículum resumido del autor

Soy Catedrático de Universidad en el área de conocimiento de Genética desde el año 2000. He impartido asignaturas de *Genética*, *Genética Humana*, *Genética de Poblaciones*, *Evolución*, *Ingeniería Genética* y *Genética Molecular* en las licenciaturas o grados de Biología, Medicina, Ciencias Ambientales, Bioquímica y Biotecnología de las universidades de [Murcia](#) y [Alicante](#) y en la [UMH](#). He sido responsable de asignatura en 36 ocasiones, organizando 13 de nueva creación, y he impartido 32 cursos de doctorado.

Soy Licenciado en Ciencias Químicas (Universidad de Murcia, 1979) y en Ciencias Biológicas ([Universidad Autónoma de Madrid](#), 1983). Fui Profesor Ayudante de la Universidad de Murcia (1979-85), becario postdoctoral de la [Fundación Juan March](#) en el [Centro de Biología Molecular Severo Ochoa](#) (Madrid, 1986-89), y Research Fellow y Senior Research Fellow en el [California Institute of Technology](#) (Pasadena, EEUU, 1989-91). Creé el grupo de Genética de la Universidad de Alicante, a la que me incorporé en 1991 como Profesor Titular de Universidad, y el de la UMH, a la que fui transferido en el momento de su creación, en 1997.

Soy autor de más de cien [publicaciones científicas](#), que incluyen artículos en *Nature*, *Plant Cell*, *Nucleic Acids Research*, *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, *Current Opinion in Plant Biology*, *Trends in Genetics*, *Trends in Plant Science*, *New Phytologist*, *Development*, *Plant Journal*, *Plant Physiology*, *Molecular Biology and Evolution*, *Genetics* y otras revistas, que han recibido unas 6.000 citas según [Google Scholar](#). He dirigido 19 tesis doctorales finalizadas y el trabajo de 14 investigadores doctores.

Para más información, véase <http://genetics.umh.es>.





90 problemas resueltos de Ingeniería Genética

Autor:

José Luis Micol Molina

ISBN:

978-84-16024-73-5

Fecha de edición:

22/12/2017

Editorial:

Universidad Miguel Hernández de Elche

Maquetación:

Servicio de Innovación y Apoyo Técnico a la
Docencia y a la Investigación UMH

Nota de la editorial:

Los textos de esta publicación y su revisión ortográfica
son responsabilidad del autor