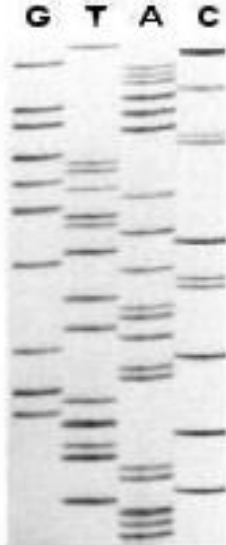


PROBLEMAS 3: SECUENCIACIÓN

1- La siguiente secuencia se ha obtenido por el método enzimático de terminación de cadena de Sanger o método dideoxi. A partir de la autorradiografía suministrada:

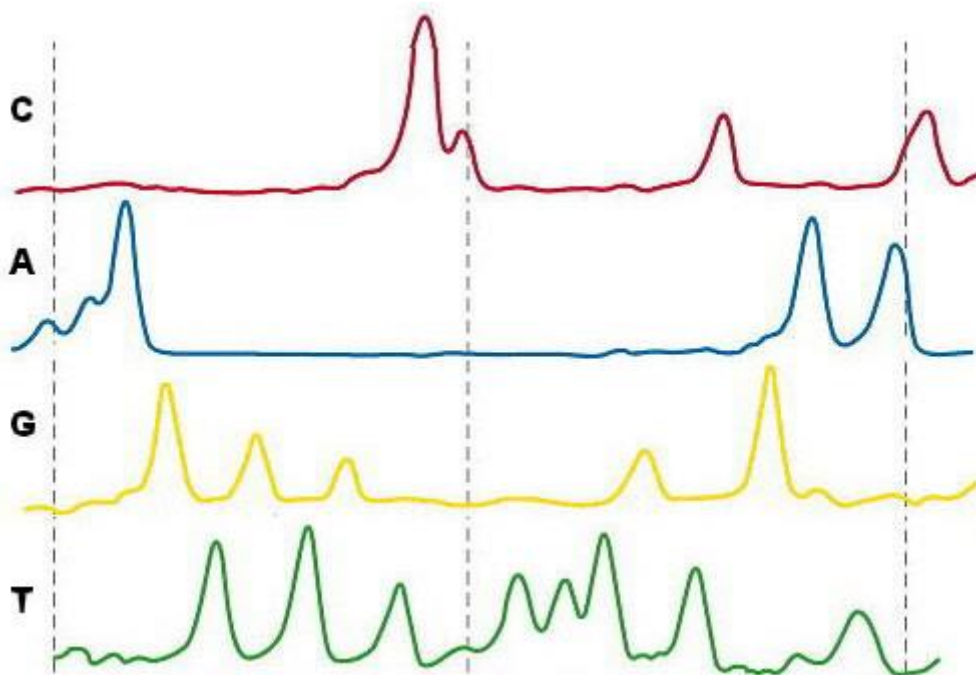


a- Lea el mayor número posible de nucleótidos.

b- Haciendo uso del código genético, indique la secuencia de aminoácidos de los posibles polipéptidos sintetizados a partir del segmento del gen analizado.

		Segunda base					
		U	C	A	G		
P r i m e r a b a s e	U	Phe UUU	Ser UCU	Tyr UAU	Cys UGU	U C A G U C A G U C A G U C A G	T e r c e r a b a s e
		Phe UUC	Ser UCC	Tyr UAC	Cys UGC		
		Leu UUA	Ser UCA	Stop UAA	Stop UGA		
		Leu UUG	Ser UCG	Stop UAG	Trp UGG		
	C	Leu CUU	Pro CCU	His CAU	Arg CGU		
		Leu CUC	Pro CCC	His CAC	Arg CGC		
		Leu CUA	Pro CCA	Gln CAA	Arg CGA		
		Leu CUG	Pro CCG	Gln CAG	Arg CGG		
	A	Ile AUU	Thr ACU	Asn AAU	Ser AGU		
		Ile AUC	Thr ACC	Asn AAC	Ser AGC		
		Ile AUA	Thr ACA	Lys AAA	Arg AGA		
		Met AUG	Thr ACG	Lys AAG	Arg AGG		
	G	Val GUU	Ala GCU	Asp GAU	Gly GGU		
		Val GUC	Ala GCC	Asp GAC	Gly GGC		
		Val GUA	Ala GCA	Glu GAA	Gly GGA		
		Val GUG	Ala GCG	Glu GAG	Gly GGG		

2- Los siguientes diagramas o perfiles de Fluorescencia se han obtenido por el método automático de secuenciación. Cada una de las cuatro reacciones de secuenciación se ha marcado con un fluorocromo diferente. Para la reacción con ddCTP se empleó fluorescencia roja, para ddAT fluorescencia azul, para ddGTP fluorescencia amarilla y para ddTTP fluorescencia verde. Indique la secuencia de nucleótidos del fragmento de ADN problema.



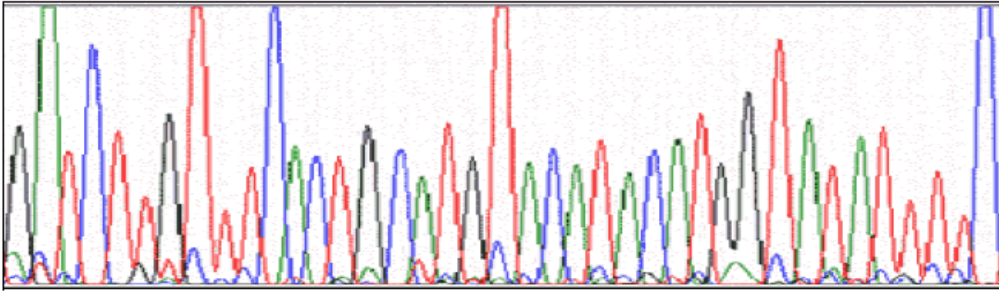
3- Dada la siguiente secuencia de nucleótidos de la hélice molde de ADN:

3' CTTAACCGCCCGAT 5'

Dibujar un esquema de la autorradiografía correspondiente al gel de acrilamida que obtendríamos por el método de Sanger.

4- El siguiente diagrama o perfil de Fluorescencia se ha obtenido por el método automático de secuenciación. Cada una de las cuatro reacciones de secuenciación se ha marcado con un fluorocromo diferente. Para la reacción con ddCTP se empleó fluorescencia roja, para ddTAT fluorescencia azul, para ddGTP fluorescencia amarilla y para ddATP fluorescencia verde.

a- Indique la secuencia de nucleótidos del fragmento de ADN problema.



b- Traduzca a polipéptido la secuencia obtenida en el punto “a” y compárela con la siguiente secuencia: D S A L F V R I H T A H P. En caso de que no coincidan, indique que alteración que se ha producido.

Códigos de 1 y 3 letras para los aminoácidos:

A	Ala	G	Gly	M	Met	S	Ser
C	Cys	H	His	N	Asn	T	Thr
D	Asp	I	Ile	P	Pro	V	Val
E	Glu	K	Lys	Q	Gln	W	Trp
F	Phe	L	Leu	R	Arg	Y	Tyr

5- Realizando un esquema dibuje el electroferograma resultante de una secuenciación que incluyera:

- a- un cambio de una base por otra
- b- una inserción de una base
- c- una delección de tres bases.

6- Analice los electroferogramas, establezca cual es el control de referencia y explique que observa en la muestra no-control

