

GENES Y METABOLISMO II

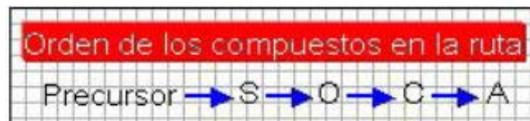
1.- Cinco mutantes nutricionales de *Neurospora* pueden crecer (+) en medio mínimo suplementado por la sustancia A. Algunos de estos mutantes también pueden crecer cuando se añaden al medio mínimo las sustancias indicadas en la tabla:

Mutantes	Sustancia añadida al medio			
	C	S	A	O
1	+	+	+	+
2	+	-	+	+
3	+	-	+	-
4	-	-	+	-
5	-	-	+	-

- a) ¿Qué ruta metabólica propondría para la síntesis de A?
- b) ¿Qué paso metabólico tiene bloqueado cada mutante?
- c) ¿Que compuesto acumularán los diferentes mutantes utilizados?
- d) El mutante 4 también puede crecer cuando se añade al medio mínimo el compuesto AG, mientras que el mutante 5 solamente es capaz de crecer cuando se suplementa con la sustancia A. ¿Cuál de estas dos mutaciones va antes en la ruta propuesta? ¿En qué etapa de la ruta se sintetizaría el compuesto AG?

SOLUCIÓN

a) Cuántos más mutantes crecen con una determinada sustancia tanto más hacia el final de la ruta estará dicho compuesto. Cuantos menos mutantes viven con un determinado compuesto tanto más hacia el principio de la ruta estará. Con A crecen todos los mutantes, por tanto, será el último de la ruta. Con S vive un sólo mutante, por lo que esta sustancia sería la primera. Después de S vendría la sustancia O, ya que dos mutantes crecen con este compuesto y, a continuación, seguiría C puesto que hay tres mutantes que crecen con ella. Por tanto, el orden de estos compuestos en la ruta sería:



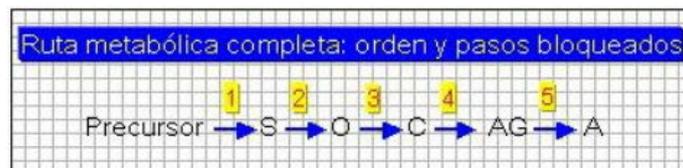
b) Un mutante crece con un compuesto posterior al punto de bloqueo y no crece con una sustancia anterior. El mutante 1 crece con todos los compuestos; por tanto, debe tener un bloqueo en un paso anterior a S que es el primero. Por consiguiente, debe estar bloqueado en el siguiente paso: precursor → S. El mutante 2 no crece

con S y lo hace con O, C y A; por tanto, estará afectado en el paso $S \rightarrow O$. El mutante 3 no crece ni con S ni con O; sin embargo, si crece con C y A, estando bloqueado en $O \rightarrow C$. Por último, los mutantes 4 y 5 según los datos de la tabla son idénticos, por consiguiente, deben estar bloqueados en el mismo paso. Ambos mutantes crecen sólo con A, estando bloqueados en $C \rightarrow A$. En el siguiente esquema se indican los pasos bloqueados en cada mutante:



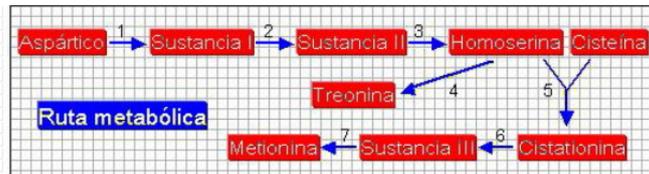
c) Los mutantes acumulan los compuestos inmediatamente anteriores al paso bloqueado; por consiguiente, el mutante 1 acumula precursor, el 2 acumula S, el 3 acumula O y los mutantes 4 y 5 acumulan C.

d) Si el mutante 4 es capaz de crecer cuando se añade al medio mínimo AG, mientras que el mutante 5 no crece con este compuesto, este resultado nos indica que ambos mutantes son diferentes y que entre C y A existe otro compuesto en la ruta que es AG. De manera que el mutante 4 estaría bloqueado en $C \rightarrow AG$ y el mutante 5 afectaría al paso $AG \rightarrow A$. Por tanto, la ruta quedaría de la siguiente forma:



Compuestos acumulados por cada mutante	
1:	Precursor
2:	S
3:	O
4:	C
5:	AG

2.- Las estirpes mutantes A, B, C y D de *Neurospora*, necesitan para poder crecer que se añadan al medio mínimo los aminoácidos treonina y metionina, según se indica en la siguiente ruta:



Estirpe	Sustancia añadida al medio mínimo					
	Aspártico	Homoserina	Cisteína	Treonina	Cistationina	Metionina
A	-	-	-	-	+	+
B	-	+	-	-	-	-
C	-	-	-	-	-	+
D	-	-	-	+	-	-

Teniendo en cuenta que las estirpes A, B, C y D necesitan ambos aminoácidos para crecer:

- ¿Qué paso de la ruta metabólica estaría bloqueado en cada una de las estirpes?
- ¿Que compuesto acumularía cada una de las estirpes?

SOLUCIÓN

a) La ruta metabólica indicada es una ruta bifurcada, primero tienen un tronco común y de este nacen dos ramas. En estas rutas podemos encontrarnos tres tipos de mutantes. Los mutantes que afectan al tronco común que para crecer necesitan que se añadan simultáneamente los dos productos finales (treonina y metionina), los mutantes en una de las ramas que para crecer necesitan que se añada el compuesto final de la rama a la que afecta el mutante. Por ejemplo, un mutante en la rama que va a dar lugar a metionina crece añadiendo sólo metionina y no crece con el compuesto final de la otra rama (treonina). Según esta clasificación, los mutantes A y C crecen con metionina y no lo hacen con treonina, por tanto, A y C bloquearían en la rama que va a dar lugar a metionina. El mutante D crece con treonina y no crece con metionina, por consiguiente debe bloquear en la rama que conduce a treonina. Por último, el mutante B no crece con metionina sólo o con treonina sólo, por tanto debe necesitar ambos compuestos para crecer, estando bloqueado en el tronco común de la ruta. Ya sabemos en que zona de la ruta están bloqueados los cuatro mutantes, sin embargo, para decidir el paso concreto que tienen afectado hemos de fijarnos en los compuestos que les permiten crecer a cada uno de ellos. El criterio que debemos seguir es el mismo de siempre, un mutante crece con un compuesto posterior al punto de bloqueo y no crece con una sustancia anterior. Sin embargo, al tratarse de una ruta bifurcada, tenemos que tener en cuenta que los mutantes que afectan al tronco común de la ruta no

van a crecer cuando se añadan compuestos posteriores al punto de bloqueo que estén situados en alguna de las dos ramas.

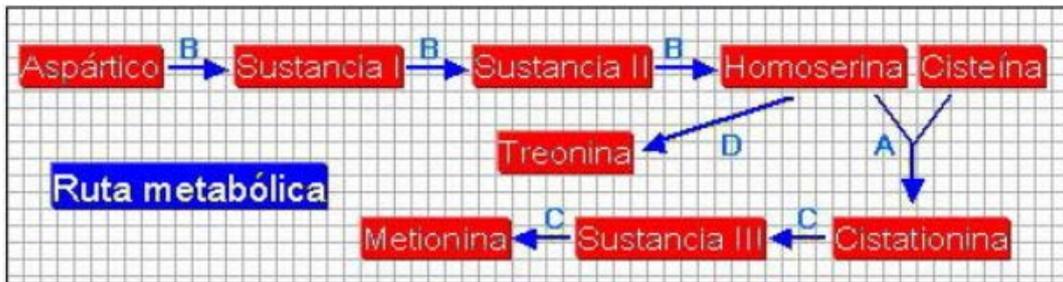
El mutante A afecta a la rama que da lugar a metionina, crece con cistationina o con metionina, por tanto estará bloqueado en el paso homoserina+cisteína → cistationina.

El mutante B actúa en la rama común de la ruta, crece sólo con homoserina; por tanto, está bloqueado en un paso anterior, en cualquiera de los tres pasos que hay entre aspártico y homoserina, ya que en la tabla no tenemos datos sobre las sustancias I y II.

El mutante C afecta a la rama que conduce a metionina, y crece solo con metionina y no con cistationina, por consiguiente debe afectar a cualquier de los dos pasos que existen entre cistationina y metionina, ya que tampoco tenemos datos sobre la sustancia III.

Por último, el mutante D bloquea en la rama que conduce a treonina y sólo crece con treonina, por tanto debe estar bloqueado entre homoserina y treonina.

Los puntos en que estaría bloqueado cada uno de los cuatro mutantes estudiados son los siguientes:



Compuestos acumulados por cada estirpe mutante
A: Treonina y Cisteína
B: Sust I ó Sust II ó Aspártico
C: Sust III ó Cistationina
D: Metionina

3.- Siete mutantes nutricionales necesitan para crecer los aminoácidos F y H. Los resultados obtenidos al añadir otras sustancias relacionadas al medio mínimo se indican en la siguiente tabla:

Mutante	Sustancia añadida al medio mínimo								
	A	B	C	D	E	F	G	H	F+H
1	-	+	-	-	-	-	-	-	+
2	-	-	+	+	+	+	-	-	+
3	-	-	-	+	+	+	-	-	+
4	-	-	-	-	+	+	-	-	+
5	-	-	-	-	-	+	-	-	+
6	-	-	-	-	-	-	+	+	+
7	-	-	-	-	-	-	-	+	+

+ indica crecimiento y - no crecimiento

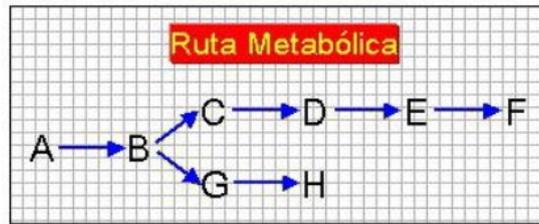
a) Proponga, basándose en los resultados de la tabla, una ruta metabólica que conduzca a la formación de los aminoácidos F y H.

b) ¿Indique que paso metabólico tendría bloqueado cada mutante y que sustancia acumularía?

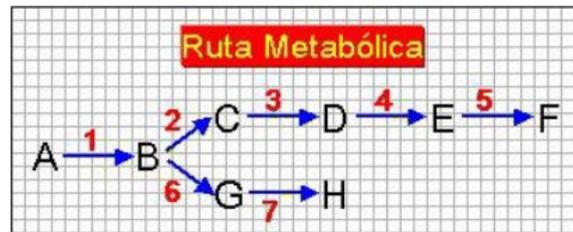
SOLUCIÓN

a) Según se nos indica en el enunciado del problema, existen dos compuestos finales F y H que son los que necesitan estos mutantes para crecer. Además podemos observar que hay mutantes que crecen con el compuesto final F y no con H (2, 3, 4 y 5), otros que crecen con el compuesto final H y no con F (6 y 7), y mutantes que no crecen ni con F ni con H (1). Se trata, por tanto, de una ruta bifurcada en la que el mutante 1 afecta a la rama común de la ruta, los mutantes 2, 3, 4 y 5 afectan a la rama que va a dar lugar a la sustancia F y los mutantes 6 y 7 actúan en la rama que produce H.

Si nos fijamos en las sustancias que hacen crecer a los dos mutantes que actúan en la rama que produce H (6 y 7), podemos averiguar el orden de esos compuestos en la ruta (G y H). Con H crecen los dos mutantes y con G crece un mutante. Por tanto, el orden de las sustancias en esa ruta debe ser: $G \rightarrow H$. Igualmente, fijándonos en las sustancias que hacen crecer a los mutantes que viven con E (2, 3, 4 y 5), podemos averiguar el orden de esos compuestos (C, D, E y F) en la rama que produce F. Con F crecen los cuatro mutantes, con E crecen tres mutantes, con D viven dos mutantes y con C sólo uno, por consiguiente el orden debe ser $C \rightarrow D \rightarrow E \rightarrow F$. Por último, solamente nos queda averiguar el orden de las sustancias de la zona común de la ruta. Para ello, nos fijamos en el mutante 1 y en el resto de las sustancias (A y B) que intervienen en la ruta. Con B crece un mutante y con A ninguno de los mutantes. El orden de los compuestos en la rama común es: $A \rightarrow B$. La ruta metabólica que explica los resultados obtenidos en la tabla, sería la siguiente:



b) El punto de bloqueo de cada uno de estos mutantes lo obtendríamos fijándonos en los compuestos que los hacen crecer (posteriores al punto de bloqueo) y los que no los hacen crecer (anteriores al punto de bloqueo). Tendríamos que tener en cuenta que se trata de una ruta bifurcada y que los mutantes que afectan a la rama común no crecen con las sustancias de las ramas específicas que dan lugar a los compuestos finales F y H, a pesar de ser posteriores al punto de bloqueo. Siguiendo estos criterios, los mutantes bloquearían los pasos indicados en el siguiente esquema:

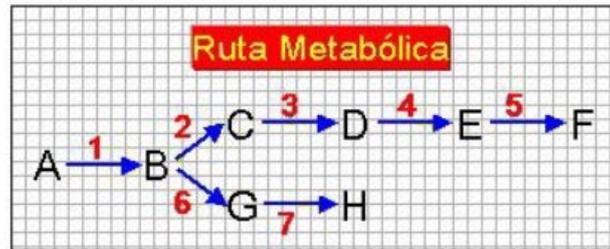


El compuesto que acumula cada mutante es el anterior al paso que tiene bloqueado, y además en el caso de aquellos mutantes que afectan a las ramas específicas que dan lugar a F y a H (compuestos finales) se producirá uno de los compuestos finales. Por tanto, el mutante 2 acumula H, el mutante 3 acumula C y H, el mutante 4 posee exceso de D y H y el mutante 5 produce E y H. El mutante 6 acumula F, el mutante 7 tiene gran cantidad de G y produce F. El mutante 1 de la rama común, acumulan A.

Compuestos acumulados por cada estirpe mutante	
1:	A
2:	H
3:	C y H
4:	D y H
5:	E y H
6:	F
7:	G y F

4.- Dada la siguiente ruta metabólica bifurcada, en la que los mutantes se han designado mediante números arábigos (1 al 7) y las sustancias de la ruta con letras mayúsculas (de A hasta G).

Suponiendo que estos siete mutantes necesitan F y H simultáneamente para crecer:



a) Construya una tabla de crecimiento de cada uno de los siete mutantes citados empleando como sustancias añadidas todas aquellas que aparecen en la ruta del esquema.

b) ¿Que características de crecimiento presentan los mutantes que afectan a la rama común de la ruta y a cada una de las bifurcaciones?

SOLUCIÓN

a) Los mutantes que afectan a las ramas específicas que conducen a F Y H crecen cuando se añade un compuesto posterior al punto de bloqueo de su rama y no lo hacen con un compuesto anterior. Los datos de crecimiento se indican en la siguiente tabla:

Mutante	Sustancia añadida al medio mínimo								
	A	B	C	D	E	F	G	H	F+H
1	-	+	-	-	-	-	-	-	+
2	-	-	+	+	+	+	-	-	+
3	-	-	-	+	+	+	-	-	+
4	-	-	-	-	+	+	-	-	+
5	-	-	-	-	-	+	-	-	+
6	-	-	-	-	-	-	+	+	+
7	-	-	-	-	-	-	-	+	+

+ indica crecimiento y - no crecimiento

b) El mutante 1 de la rama común de la ruta, no crece ni con F sólo ni con H sólo que son los compuestos finales. Los mutantes 2, 3, 4, y 5 de la rama que produce F, crecen cuando se añade F pero no cuando se añade el otro compuesto final (H). Los mutantes que afectan a la rama de G (6 y 7) crecen cuando se añade H pero no lo hacen con F (la otra sustancia final).

5.- El fenotipo normal del color de los ojos de cierto insecto se debe a la formación de pigmento rojo. Se dispone de 4 mutantes (1, 2, 3 y 4), cada uno con un paso distinto bloqueado de la ruta metabólica que conduce a la formación de los pigmentos. El color de los ojos de estos cuatro mutantes es el siguiente: 1, rojo brillante (rb); 2,

naranja (na); 3, blanco (bl) y 4, amarillo (am). El color normal de los ojos de estos insectos es rojo oscuro (RO).

Al llevar a cabo un experimento similar al realizado por Beadle y Ephrussi, se injertaron "discos imaginales" de ojo en larvas receptoras de fenotipos distintos, se obtuvieron individuos adultos con un ojo extra en el abdomen, ojo cuyo color se indica en la siguiente tabla:

Fenotipo larva receptora	Larva donadora del "disco imaginal" injertado				
	RO	Rb	na	bl	am
RO	-	RO	RO	RO	RO
rb	RO	-	RO	RO	RO
na	RO	rb	-	RO	RO
bl	RO	rb	na	-	am
am	RO	rb	na	RO	-

Suponiendo que todos los pigmentos indicados fueran difusibles y se sintetizaran en todas las células del cuerpo de la larva:

- Deducir la ruta de formación del pigmento rojo oscuro (RO).
- Indicar que paso metabólico tendría bloqueado cada mutante y que pigmento acumularía.

SOLUCIÓN

1) Siempre que la larva receptora suministre un compuesto posterior al punto de bloqueo del disco imaginal de ojo injertado, el tejido injertado salvará el punto que tenía bloqueado y producirá la sustancia final originando un ojo extra normal (rojo oscuro, RO). Por tanto, si la larva receptora está bloqueada en un paso posterior al del tejido injertado, obtendremos un ojo extra normal (RO), pero si la larva receptora está afectada en un paso anterior al del disco imaginal injertado obtendremos un ojo extra con el mismo aspecto que el del disco imaginal injertado. Teniendo en cuenta estos criterios, lo lógico es que obtengamos un ojo extra normal (RO) siempre que la larva receptora sea normal, independientemente del tejido de disco injertado, ya que la larva receptora normal puede fabricar todos los productos de la ruta incluido el último.

Cuántas más veces aparezca en los trasplantes un ojo extra mutante, tanto más hacia el final de la ruta tendrá el bloqueo dicho mutante. Cuántas menos veces aparezca un ojo extra mutante tanto más hacia el principio de la ruta estará afectado dicho mutante. Según este criterio, el primer compuesto de la ruta sería el blanco ya que no aparece nunca un ojo extra de este color y el último sería el pigmento normal rojo oscuro. Posterior al blanco iría el amarillo (1), después el

naranja (2) y luego el rojo brillante (3) Por tanto, el orden de las mutaciones en la ruta sería el siguiente: Blanco → Amarillo → Naranja → Rojo brillante → Rojo oscuro.



b) Los pasos metabólicos que tendría bloqueado cada mutante se deducen siguiendo los criterios expuestos en el apartado anterior y se indican en el siguiente esquema:



El mutante bl acumulará producto blanco, el mutante am producto amarillo, el mutante na tendrá un exceso de sustancia naranja y el rb tienen gran cantidad de pigmento rojo brillante.