



## Genética 1º Grado en Biología y CC del Mar. Curso 2010-11.

### Tutoría grupal 3. Análisis genético de rutas metabólicas.

### Guía de aprendizaje basado en la resolución de problemas.

#### A. DATOS DE CRECIMIENTO

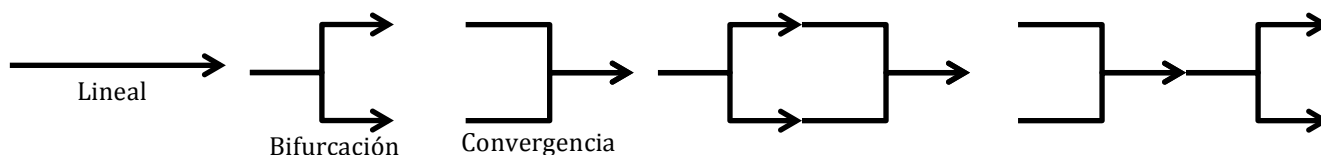
El análisis genético de rutas metabólicas suele realizarse mediante la inspección del crecimiento de un microorganismo en una serie de medios, derivados del medio mínimo a los que se ha añadido algún compuesto. Adicionalmente, puede analizarse si hay algún compuesto acumulado en esos mutantes que pueda ayudarnos a elucidar la ruta.

Los mutantes que aparecen en una tabla han debido ser aislados de una misma estirpe silvestre, y cada uno de ellos es portador de una única mutación. Cada uno de los genes es a su vez responsable de la síntesis de una enzima que cataliza una reacción de la ruta.

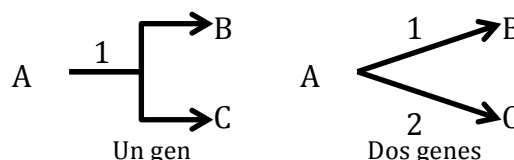
En cada uno de los medios indicados en la tabla, el medio mínimo ha sido suplementado con uno (o varios) compuestos químicos diferentes. Todos estos compuestos forman parte de la ruta que se está intentado elucidar. En la tabla, el símbolo "+" indica que el mutante crece en el medio con el correspondiente compuesto añadido, y el signo "-" indica que no crece.

#### B. TIPOS DE RUTAS.

Las rutas de síntesis de compuestos puede ser lineales, aunque lo más abundante es que tengan diversas ramificaciones. En este curso, vamos a estudiar únicamente las bifurcaciones y las convergencias de dos ramas. Las bifurcaciones y las convergencias se pueden combinar, junto con segmentos lineales, en una misma ruta.



Finalmente, las bifurcaciones pueden estar catalizadas por una enzima, estando un único gen implicado en la síntesis de dos compuestos, o por dos enzimas, donde hay dos genes implicados. En este último caso, las mutaciones en los genes responsables de las enzimas 1 y 2 no producen acumulación del compuesto A.



#### B. DETERMINACIÓN DE LA RUTA.

Podemos establecer dos reglas generales sobre el número de signos "+" que aparecen en las columnas de los compuestos o en las filas de los mutantes

- Sobre los compuestos añadidos al medio mínimo (columnas): cuanto más símbolos "+" tenga, el compuesto estará situado más a la derecha.
- Sobre los mutantes (filas), cuando más símbolos "+" tenga, el gen responsable determinará una enzima situada más a la izquierda.

Sobre la localización de los genes y los compuestos acumulados, podemos establecer que:

- Un compuesto acumulado por un mutante es, generalmente, el sustrato de la enzima correspondiente al gen mutado en la ruta.
- Un mutante debe crecer con todos los compuestos que se encuentran a la derecha de la reacción que tiene bloqueada, y nunca debe crecer con los compuestos que se encuentran antes del paso bloqueado.

Sobre las convergencias y las bifurcaciones:

- Cuando se acumulan dos compuestos, la ruta debe contener una convergencia (dos rutas que se cierran en una).
- En una ruta con una bifurcación, puede haber dos compuestos de la ruta con los que no crecen ningún mutante, pero añadiendo dos compuestos pueden crecer todos los mutantes.

Se recomienda seguir los siguientes pasos:

- Empezar con el mutante que tenga menos signos "+", es decir, cuyo paso metabólico interrumpido se encuentre más al final de la ruta. Si hay dos mutantes que tengan un único signo "+", tenemos una bifurcación al final de la ruta (ir al punto 4).
  - Podemos colocar el gen de este mutante inmediatamente antes del compuesto con el que crece.
  - Si hay compuesto acumulado, lo podemos poner inmediatamente antes de la reacción bloqueada.
- Seguir con el mutante que tenga un signo "+" adicional. Corresponderá a la enzima que se encuentre en la ruta metabólica a la izquierda del mutante anterior.
  - Si hay dos mutantes que tengan un "+" adicional, hay una convergencia de la ruta. El mutante anterior será el que une dos sustratos para sintetizar un solo producto. Estos sustratos son los compuestos que acumula y serán también los compuestos con los que crecen los dos siguientes mutantes. Entonces hay que construir **dos rutas paralelas** provisionales, que luego se encajarán con la bifurcación correspondiente de forma que sea compatible con los resultados.
- Continuar con el mutante que tenga un "+" adicional, y así sucesivamente. Si tenemos dos rutas paralelas, tendremos que hacerlo para cada una de ellas.
- Si hay una bifurcación, tenemos que construir dos rutas paralelas que acaben en los compuestos finales de la ruta, continuando cada ruta con los mutantes que contengan signos "+" adicionales en cada una de las rutas.

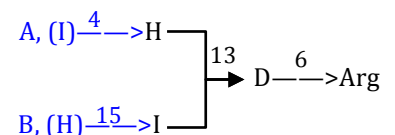
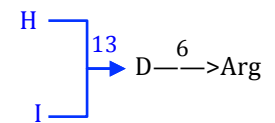
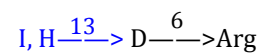
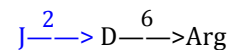
Siempre es conveniente, en caso de que haya bifurcaciones y divergencias, intentar construir sub-rutas o ramas provisionales que luego podemos ensamblar para hacerlas compatibles con los resultados de la tabla.

**Ejemplo:** Se ha aislado una serie de mutantes auxótrofos para la arginina (Arg) de un alga unicelular haploide. Se muestran en la tabla los datos de crecimiento, junto a los compuestos acumulados por cada mutante:

Mutante	Compuesto añadido al medio mínimo (MM)									Compuestos acumulados	
	A	B	D	H	I	J	K	L	Arg		
2	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	J
4	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+	A, I
5	-	+	+	-	+	-	-	-	-	+	H, K
6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	D
7	-	-	+	-	-	+	-	+	+	+	-
10	-	-	+	-	-	+	-	-	-	+	L
13	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	H, I
15	-	-	+	-	+	-	-	-	-	+	B, H

Para establecer la ruta metabólica:

- Mutante con solo un signo "+": mutante 6. Acumula D. Conclusión :  $D \xrightarrow{6} \text{Arg}$
- Mutantes con signo "+" adicional: mutante 2 (crece con D, acumula J), mutante 13 (crece con D, acumula I y H). Se puede construir dos rutas provisionales.
  - Puesto que hay dos compuestos (A y K) que no permiten el crecimiento de ningún mutante, deben estar en las ramas de una bifurcación.
  - Si hay dos compuestos acumulados en algún mutante, y hay dos mutantes con un "+" adicional, hay una convergencia. El mutante que menos "+" tenga de los que acumula dos compuestos ha de ser el mutante del gen que está convergiendo: 13 está antes que D, y acumula H e I, que están antes de la convergencia. Así finalizan las dos ramas convergentes.
- Hay tres mutantes con un signo "+" adicional:
  - Mutante 4 (crece con H, acumula A e I).
  - Mutante 10 (crece con J, acumula L).
  - Mutante 15 (crece con I, acumula H y B).



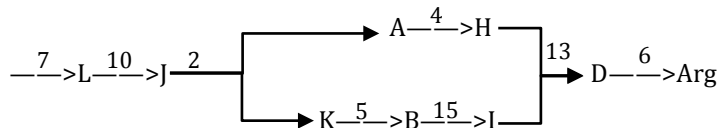
Puesto que los mutantes 4 y 15 acumulan dos compuestos (uno anterior y el último antes de la bifurcación de la rama contraria), han de estar en las ramas paralelas. Además de que crecen con H y con I, respectivamente. El mutante 10 está en la ruta del 2 (crece con J) y nos permite construir una ruta provisional, situada antes de la divergencia.



- Hay dos mutantes con un signo "+" adicional en dos ramas:
  - Mutante 7 (crece con L, no acumula nada). Debe estar en la rama del mutante 10.
  - Mutante 5 (crece con B, acumula H y K). Debe estar antes del mutante 15.



- Una vez están todos los mutantes y compuestos situados, componemos una ruta compatible.



Una vez construida la ruta, se puede responder fácilmente a las preguntas adicionales que nos hagan sobre el crecimiento o compuestos acumulados.

¿Qué mutantes crecerán en MM suplementado con los compuestos A+K?

- Crecerán los mutantes que puedan sintetizar arginina, es decir, cuyos bloqueos estén situados antes de los compuestos añadidos.
  - Los mutantes 7, 10 y 2 están bloqueados antes de A y K, por lo que podrán transformarlos en arginina.
  - Los mutantes 4, 5, 15, 13 y 6 tienen bloqueadas reacciones tras los compuestos A y K, por lo que no podrán transformarlos en arginina.

¿Qué mutantes crecerán en MM suplementado con los compuestos H+J?

- Crecerán los mutantes que puedan sintetizar arginina, es decir, cuyos bloqueos estén situados antes de los compuestos añadidos.
  - Los mutantes 7 y 10 están interrumpidos antes de H y J, por lo que podrán transformarlos en arginina.
  - El mutante 4 está interrumpido antes de H, y para sintetizar D necesita H (añadido al medio) e I (que lo puede producir normalmente), por lo que crecerá con arginina.

¿Qué compuestos añadidos por separado al MM permitirán el crecimiento de una estirpe portadora de las mutaciones 4 y 15?

- El doble mutante 4+15 sintetizará arginina con los compuestos posteriores a esas mutaciones
  - H e I por separado, a pesar de estar a la derecha de las mutaciones, no permiten el crecimiento, pues están en una convergencia y se necesitan los dos a la vez.
  - El compuesto D, y la misma arginina, sí permiten el crecimiento del doble mutante.

¿Qué compuesto(s) acumulará dicha estirpe doble mutante en MM?

- Los compuestos que se acumulan son los sustratos de las enzimas mutadas en cada mutante, siempre y cuando esos compuestos se pueda sintetizar.
- En el caso de convergencia, el compuesto de la derecha de una rama se acumula si está interrumpido cualquier paso de la otra rama paralela.
  - Los compuestos A y B se acumulan en ese doble mutante.

### Recomendaciones

- Cuantos más problemas de rutas metabólicas resuelvas, mejor. Con la práctica, aprenderás a identificar fácilmente las convergencias y las divergencias.
- Bibliografía:
  - "360 problemas de genética paso a paso", de César Benito Jiménez, disponible en la Biblioteca de la Facultad, contiene en el Capítulo 3 "Genética Bioquímica" 13 problemas de rutas metabólicas resueltas paso a paso.
  - "Problemas de Genética para un curso general", de Alfonso Jiménez, contiene también algunos problemas en el capítulo 3, con las soluciones al final de libro.
  - Esta página web de la Universidad Complutense contiene problemas resueltos de rutas, y también otros muchos problemas de Genética que pueden ser de utilidad para el curso
    - <http://www.ucm.es/info/genetica/AVG/problemas/bioquimica.htm>